Aus der Medizinischen Universitätsklinik Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. H. A. Kühn

UNTERSUCHUNGEN ZUR FRAKTIONELLEN OXIDATION DES NETTOTRANSPORTES FREIER PLASMAFETTSÄUREN BEIM STOFFWECHSELGESUNDEN UND ADIPÖSEN

INAUGURAL-DISSERTATION

verfaßt und dem
Fachbereich Medizin
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Ernst Dadrich

aus Lipprichhausen

Würzburg, den 7. August 1979

1980

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. H. A. Kühn

UNTERSUCHUNGEN ZUR FRAKTIONELLEN OXIDATION DES NETTOTRANSPORTES FREIER PLASMAFETTSÄUREN BEIM STOFFWECHSELGESUNDEN UND ADIPÖSEN

INAUGURAL-DISSERTATION

verfaßt und dem
Fachbereich Medizin
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Ernst Dadrich
aus Lipprichhausen

Würzburg, den 7. August 1979

Referent:	Prof. Dr. H. Kasper
Korreferent:	Prof. Dr. H.A. Kühn
Dekan:	Prof. Dr. O. Schrappe

Tag der mündlichen Prüfung: 21. Februar 1980

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches Medizin
der Universität Würzburg

MEINEN ELTERN GEWIDMET

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543512_0122

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I.	Einleitung	1
II.	Kurzer Abriß zum Stoffwechsel freier Plasmafettsäuren (FFS)	3
	1. Der Transport von FFS als Funktion I. Ordnung der FFS-Konzentration	3
	2. Die FFS-Oxidation	4
	3. Der TG-FFS-Substratcyclus	8
III.	Der FFS-Transport im 1-Kompartiment Modell	11
IV.	Versuchsablauf	14
V.	Analytische Methoden	18
	1. Messung des O_2-Verbrauchs und der CO_2-Produktion	18
	1.1. Das Meßprinzip des "Oxytest S"	19
	1.2. Das Meßprinzip des "Uras MT"	20
	2. Ermittlung des "non-protein-RQ"	21
	3. Extraktion der Serum-Gesamtlipide	22
	3.1. Lösungen	22
	3.2. Durchführung	22
	4. Trennung der FFS von den Triglyceriden (TG) Cholesterin und Phospholipiden	22
	4.1. Lösungen	22
	4.2. Durchführung	23
	4.3. Qualitätskontrolle	23
	5. Ansetzen der radioaktiv markierten Zählproben	24
	5.1. FFS	24
	5.2. Kohlendioxid	24

Seite

6. Titrimetrische Bestimmung der FFS 24

6.1. Lösungen 25

6.2. Bestimmung 25

6.3. Berechnung 25

7. Gaschromatische Bestimmung der FFS 26

7.1. Herstellung der Methylester der FFS 26

7.2. Herstellung des Veresterungsreagens 27

7.3. Gaschromatographie 27

7.4. Variationskoeffizienten 27

8. CO_2-Titration und Bestimmung des $^{14}CO_2$ 28

8.1. Durchführung 28

8.2. Bestimmung des $^{14}CO_2$ 28

9. Titrimetrische Bestimmung des Gesamt-CO_2 29

10. Formeln 29

VI. Chemikalien 31

VII. Geräte 32

VIII. Statistische Analyse 32

IX. Ergebnisse 33

1. Die fraktionelle Oxidation des FFS-Nettotransportes 33

2. Die FFS-Oxidation als Funktion 1. Ordnung der FFS-Konzentration und des FFS-Nettotransportes 33

3. Der Anteil der direkten FFS-Oxidation an der Lipidoxidation 37

X. Diskussion 45

XI. Zusammenfassung 50

XII. Literaturverzeichnis 53

I. EINLEITUNG

Auf der Suche nach den bestimmenden Regulationsmechanismen für den Transport und die Oxidation freier Plasmafettsäuren (FFS) kam man im Rahmen von Untersuchungen an Stoffwechselgesunden (32, 55), Adipösen (55) aber auch im Tierexperiment am Hund (2) zu dem Ergebnis, daß eine Funktion 1. Ordnung zwischen diesen beiden Parametern und der Plasmafettsäurekonzentration besteht. Aus dieser positiven Korrelation resultiert auch, daß der Sauerstoffverbrauch verschiedener Gewebe durch veränderte Konzentrationen der FFS im Serum entscheidend beeinflußt wird: so konnte beim Menschen gezeigt werden, daß während einer Infusion einer Fettemulsion der O_2-Verbrauch signifikant gesteigert wurde (40); analoge Verhältnisse fand man im Tierexperiment (44). Daneben sind es vorwiegend Substrate und Hormone, die die FFS-Oxidation entscheidend modifizieren.

Bei der Betrachtung der fraktionellen Oxidation des FFS-Nettotransportes jedoch, also des Anteiles direkt oxidierter FFS am Gesamttransport, fiel auf, daß sie sich lediglich in einem Bereich von 29 bis 46 % bewegt. Schon in früheren Untersuchungen war die Beobachtung gemacht worden, daß wesentlich mehr FFS mobilisiert werden, als eigentlich zur Oxidation gelangen (12). Steinberg (1963) bezifferte die FFS-Freisetzung nach Katecholaminstimulation als drei bis vier mal höher, als deren Oxidation. Er formulierte seine Befunde in folgenden Sätzen: "This increased (FFA-) turnover is fuss and feathers and getting nowhere. The fatty acids are being moved but they are not being oxidized." Tatsächlich könnte mit den freigesetzten FFS der Energiebedarf des gesamten Körpers gedeckt werden. Steinberg selbst fand noch keine physiologische Erklärung für dieses Phänomen. Erst später sah man in der Existenz von Substatzyclen hinreichende Interpretationsmöglichkeiten für die Regulation von Substratfluxen (46).

Wie im Muskelgewebe nachgewiesen werden konnte (14), stehen endogene Triglycerid (TG)-Pools über den TG-FFS-Substratzyklus mit intrazellulären FFS im Gleichgewicht. Ihm zufolge werden FFS nach ihrer Mobilisation teils unmittelbar oxidiert, zum größeren Teil jedoch zu TG reverestert. Diese Befunde zur fraktionellen Oxidation des FFS-Nettotransportes lieferten den Ausgangspunkt zur Fragestellung: Nach einer detaillierten Darstellung der Grundprinzipien in der Regulation von Transport und Oxidation freier Fettsäuren soll das Ziel verfolgt werden, die fraktionelle Oxidation des FFS-Transportes, die direkte FFS-Oxidation im Steady State und den Anteil des FFS-Oxidation an der Lipidoxidation bei stoffwechselgesunden, normalgewichtigen Probanden und adipösen vergleichend zu ermitteln. Dabei konnten signifikante Unterschiede in der Regulation des FFS-Transportes und der FFS-Oxidation zwischen Stoffwechselgesunden und Adipösen herausgearbeitet werden.

II. KURZER ABRISS ZUM STOFFWECHSEL FREIER PLASMAFETTSÄUREN (FFS)

1. Der Transport von FFS als Funktion I. Ordnung der FFS-Konzentration

Nach ihrer Mobilisation aus dem Fettgewebe werden FFS von der Verbraucherzelle über einen großen Bereich in Abhängigkeit von ihrer Konzentration aus dem Plasma aufgenommen und oxidiert.

Unmittelbar nach dem Übertritt ins Plasma werden die FFS an Plasmaproteine gebunden, wobei im Besonderen für langkettige Moleküle das Albumin mit mehr als 90 % der Bindungskapazität die Hauptrolle spielt. Die Lipoproteine LDL und VLDL erfüllen mit einer Kapazität von kleiner als 2 % eine vergleichsweise untergeordnete Vehikelfunktion (58). Ein wichtiger Regulationsfaktor für die Freisetzung von FFS ist der molare FFS-Albumin-Quotient, der physiologischerweise in einem Bereich von 0,5 - 2 variiert (19) und nur selten Werte von 3 erreicht. Gebundene und ungebundene FFS-Moleküle stehen in einem Gleichgewicht, das dem Massenwirkungsgesetz entspricht.

Der Übergang der FFS durch die Zellmembran gliedert sich in mehrere Einzelschritte, wie an verschiedenen Zelltypen nachgewiesen werden konnte (61, 62). Als erstes erfolgt eine Bindung an die Zellmembran, was als energieunabhängiger, reversibler Prozeß aufzufassen ist (60), der auch unter hypothermen Bedingungen abläuft. Der Durchtritt durch die Membran ist noch nicht völlig geklärt: Als Mechanismus wird der von LANDS (1960) aufgezeigte Lecithin-Lysolecithin-Zyklus diskutiert (61), wobei die Fettsäure aktiviert und auf Lysolecithin übertragen wird. Ein Regulationsfaktor für

die Aufnahme der FFS scheint, jedenfalls an myocardialen Zellkulturen (53) und am Rattendiaphragma (57), die Konzentration des plasmatischen FFS-Albumin-Komplexes zu sein.
Zur Aufnahme von FFS in Abhängigkeit zur Plasmakonzentration sind Myocard (3), Skelettmuskel (64) und Leber (63) befähigt. Lediglich das Gehirn kann wegen unzureichender Aktivität der 3-Ketoacyl-CoA-Thiolase langkettige FFS nicht oxidieren (43). Diese Befunde der konzentrationsabhängigen FFS-Aufnahme konnten aus der positiven Korrelation zwischen FFS-Konzentration und dem FFS-Nettotransport in vivo sowohl beim Stoffwechselgesunden (32, 2, 55), als auch beim Adipösen (30) nachgewiesen werden. Zwar stellen neuere Befunde das Konzept der konzentrationsabhängigen FFS-Utilisation in Frage, indem sie die reziproke Beziehung zwischen der K_{FFS} und der FFS-Konzentration aufdeckten (12). Es kann dennoch daran festgehalten werden, da Steigerungen der Plasma-FFS-Konzentrationen um 400 % lediglich zu einer Reduktion des K_{FFS}-Wertes um 48 % führten. Ebenso bestehen positive Korrelationen zwischen der Plasma-FFS-Konzentration und der FFS- bzw. Lipidoxidation sowohl beim Stoffwechselgesunden als auch beim Adipösen (Abb. 6, 7, 31, 33, 44, 51). Somit sind sowohl der FFS-Transport, als auch die FFS-Oxidation Funktionen I. Ordnung der FFS-Konzentration (44) und können dadurch den O_2-Verbrauch der einzelnen Gewebe entscheidend modifizieren.

2. Die FFS-Oxidation

Die fraktionelle Verteilung der FFS auf die einzelnen Organe wird durch deren individuellen Energiebedarf bestimmt. Aus tierexperimentellen Untersuchungen ist bekannt, daß sich 10 min nach einer i.v. Injektion von Palmitat bis zu 30 % der Dosis in der Leber und bis zu 31 % der Dosis in der Muskulatur wiederfinden. Auf Lunge, Niere, Herz, Milz und Fettgewebe fielen zusammen nur 0,4-2,1 %

der Gesamtdosis (7). Dabei war die Wiederfindung des Tracers bei gesättigten Tieren mit ca. 87 % ungefähr doppelt so hoch wie bei fastenden, was für eine raschere Oxidation der FFS im Hungerzustand spricht (7).

Nach Inkorporation in die Zelle werden langkettige FFS unter der enzymatischen Wirkung der Acyl-CoA-Synthetase zum FFS-CoA-Komplex aktiviert, wofür die äußere Mitochondrienmembran und das endoplasmatische Retikulum als Reaktionsort dienen (1, 15, 16). Die aktivierten FS können im Cytoplasma in die Triglycerid-Synthese eingeschleußt werden, oder durch die Wirkung der Carnithin-Acyl-Transferase in die Mitochondrienmatrix zur ß-Oxidation transportiert werden (59). Nach schrittweiser enzymatischer Abspaltung von C_2-Einheiten werden schließlich Acetyl-CoA, $FADH_2$ und $NADH_2$ gebildet. Acetyl-CoA kann seinerseits nun entweder in den Citratcyclus geschleußt, oder, wie in der Leber, zu Ketonkörpern kondensiert werden; ebenfalls in der Leber werden FFS, LDL, VLDL, Cholesterinester und Phospholipide gebildet und entweder weiter gespeichert, oder ins Plasma abgegeben. Die Relation von ß-Oxidation zu TG-Synthese bzw. anderen Stoffwechselwegen wird durch Hormonwirkung, Enzymaktivitäten sowie durch Substratkonzentrationen reguliert (4, 23). Als zentrales Stoffwechselorgan steht die Leber auch im Mittelpunkt des Lipidmetabolismus. Die Aufnahme von FFS erfolgt auch hier konzentrationsabhängig (63). Nach Angaben mehrerer Autoren (22, 27, 69) beläuft sich dabei die fraktionelle FFS-Aufnahme im Splanchnikusgebiet beim Menschen auf 27-37 %, wovon auf die Leber ihrerseits 75 % fallen. Je nach Stoffwechsellage werden die incorporierten FFS auf die oben beschriebenen Stoffwechselwege weiter metabolisiert: nach nächtlicher Nahrungskarrenz werden 17 % aufgenommener FFS zu VLDL-TG synthetisiert, während nur 8 % zur direkten Oxidation gelangen; weitere 31 % gelangen als Ketonkörper ins

Plasma (27). Steigende FFS-Aufnahme in die Leber vermindert insgesamt deren Endoxidation, so daß vermehrt Ketonkörper ins Plasma abgegeben werden, die Endoxidation zu CO_2 und H_2O sowie die TG-Synthese jedoch abnehmen.
Als wichtigstes Hormon modifiziert das Insulin den hepatischen FFS-Stoffwechsel. Durch Senkung der plasmatischen FFS-Konzentration wirkt es einerseits antilipolytisch, andererseits reduziert es jedoch auch die Möglichkeit des Acyl-CoA-Transportes durch die Mitochondrienmembran (42). Demgegenüber hat Glucagon eine, unabhängig von der FFS-Konzentration bestehende, ketogene Wirkung (54). Auch die plasmatische FFS-Konzentration zeigt Einflüsse auf das gegenseitige Gleichgewicht zwischen TG-Synthese und FFS-Oxidation, wenngleich hierüber kontroverse Aussagen gemacht werden: nach MAYES (1970) übersteigt bei niedriger FFS-Konzentration die TG-Reveresterung den Wert für die FFS-Oxidation; erst bei vermehrter konzentrationsabhängiger FFS-Aufnahme durch die Leber erreicht die TG-Synthese einen Sättigungswert, der nurmehr durch die ß-Oxidation übertroffen wird. Demgegenüber postulierte HUTH (1975) ein Sättigungsverhalten für die ß-Oxidation, so daß bei erhöhter FFS-Aufnahme der Leber eine gesteigerte TG-Reveresterung die Folge ist.

Am Myocard erfolgt die FFS-Aufnahme nach dem molaren FFS-Albumin-Quotienten (48). Zusätzlich scheint auch die Lipoproteinlipase des Herzmuskels eine Regelfunktion zu besitzen, da nach 48stündiger Nahrungskarenz eine um 72 % gesteigerte Aktivität dieses Enzyms beobachtet wurde (5). Der limitierende Faktor der FFS-Mobilisation am Herzen ist die Verwertbarkeit von Acetyl-CoA im Citrat-Cyclus (50). Insgesamt werden nur ca. 50 % aufgenommener FFS direkt oxidiert (45). Der Rest dürfte im Rahmen des noch zu beschreibenden TG-FFS-Substratcyclus in einen myocardialen TG-Pool (9) incorporiert werden, durch dessen Pufferwir-

kung ein wichtiger Regulationsfaktor realisiert wird (46). Der myocardiale Energiebedarf kann nach nächtlicher Nahrungskarenz bis zu 64 % von FFS und TG gedeckt werden (37). Somit wird auch hier die Utilisation verschiedener Substrate durch unterschiedliche diätetische Voraussetzungen modifiziert: nach nächtlicher überwiegender FFS-Utilisation mit einem RQ von 0,74 beobachtet man ein Ansteigen dieses Parameters auf 1,0 unter Glucose-Insulin-Infusionen (18, 47). Andererseits vermindert sich die FFS-Utilisation auch unter Sauerstoffreduktion (48, 49), weshalb am ischämischen Herzen erhöhte FS-Acyl-CoA-, Glycerin-3-phosphat- und Lipidkonzentrationen als Ausdruck stagnierender FFS-Oxidation auftreten.

Am Skelettmuskel, der FFS wiederum konzentrationsabhängig aufnimmt (64), konnten endogene TG-Speicher gefunden werden, deren Größe mit 0,4 - 0,7 µMol FFS/g Muskulatur angegeben werden (21, 25) und die mit dem Plasma-FFS-Pool im Gleichgewicht stehen. Von den aufgenommenen FFS werden nur 36 % in Ruhe direkt oxidiert (65); dies entspricht einem Anteil am Gesamtenergieumsatz von 25-33 % (24). Da unter diesen Bedingungen die direkte FFS-Oxidation nur einen Anteil von 50 % an der Gesamtlipidoxidation beträgt (26, 69), und Ketonkörper dieses Energiedefizit nicht decken können (69), müssen endogene TG-Reserven zur Kompensation herangezogen werden. So fungieren die endogenen TG-Pools auch hier im Rahmen des TG-FFS-Substratcyclus als regulierender Faktor der FFS-Oxidation in Abhängigkeit vom Bedarf an Energie (46).

3. Der TG-FFS-Substratcyclus

In früheren Untersuchungen hatte man bereits erkannt, daß nur ein Teil mobilisierter FFS zur Oxidation gelangten (12). Auch unter Katecholaminstimulation liegt die FFS-Freisetzung bei 3-4mal höheren Werten, als die FFS-Oxidation (STEINBERG, 1963). Während man jedoch zunächst keine physiologische Erklärung für dieses Phänomen fand, erkannte man erst durch neuere Untersuchungen die Bedeutung von Substratzyklen für die überschießende FFS-Mobilisation (46).

Ein Substratzyklus resultiert aus zwei entgegengesetzen Metabolitfluxen C und D, durch die zwei Substrate A und B reversibel miteinander verknüpft sind. Dabei lassen sich zwei Teilkomponenten, nämlich ein zyklischer Metabolitflux C und ein Nettoflux D-C trennen. In neueren Untersuchungen erkannte man, daß Substratzyklen, und hier im konkreten Fall der TG-FFS-Substratzyklus, eine Kombination aus einer Nahegleichgewichtsreaktion und einer Nichtgleichgewichtsreaktion darstellen und somit sowohl durch Substrat- und Produktkonzentrationen, als auch durch Kosubstratkonzentrationen und allosterische Regulatoren beeinflußt werden (46). Auf diese Weise kann die regulatorische Sensitivität gegenüber Konzentrationsänderungen einer der Komponenten des Zyklus dynamisch gesteigert werden, indem das Verhältnis von cyclischem Flux zu Nettoflux vergrößert wird (46). Angewandt auf den konkreten Fall des TG-FFS-Substratzyklus kann die regulatorische Sensitivität gegenüber FFS-Konzentrationsänderungen vergrößert werden, indem die Re-Veresterung (zyklischer Flux) im Verhältnis zur FFS-Freisetzung (Nettoflux) gesteigert wird. Da Adrenalin wenigstens passager in der Lage ist, die Reveresterung stärker zu steigern, als die FFS-Freisetzung, steigert es die regulatorische Sensitivität der FFS-Mobilisation. Der Vorgang ist sowohl im Fettgewebe, als auch im Einzelorgan, aber auch organübergreifend möglich.

Mit steigender FFS-Mobilisation wachsen auch die Re-Veresterung und damit der zyklische Flux im TG-FFS-Zyklus an.
Die fraktionelle Oxidation, die den Anteil der direkt oxidierten FFS am gesamten FFS-Nettotransport angibt, sowie der Anteil der FFS-Oxidation an der Lipidoxidation bleiben unabhängig von der FFS-Mobilisation konstant. Damit wächst mit steigender FFS-Mobilisation auch die Reveresterung, oder anders ausgedrückt, der zyklische Flux im TG-FFS-Zyklus an, weshalb die regulatorische Sensitivität gegenüber Konzentrationsänderungen von FFS unbeeinflußt wirksam bleibt.
Unter diesem Aspekt erscheint die überschießende FFS-Mobilisation als ein sinnvolles und höchst empfindliches regulatorisches Prinzip für die FFS-Utilisation unter körperlicher Belastung ebenso, wie unter hypocalorischen Bedingungen (17). Der zyklische Flux der FFS im TG-FFS-Substratzyklus stellt an sich schon einen energieverbrauchenden Prozeß dar: besonders evident wird dies jedoch bei der dynamischen Steigerung der regulatorischen Sensitivität. Nach der hydrolytischen Spaltung eines TG-Moleküls in die Spaltprodukte Glycerin und drei freie Fettsäuren müssen zu deren erneuten Veresterung zum Neutralfett insgesamt 7 energiereiche Phosphatbindungen zur Aktivierung der Ausgangsprodukte FFS und Glycerin aufgewandt werden. Dabei benötigen das Glycerin 1 und die drei Fettsäuren insgesamt 6 energiereiche Phosphatmoleküle, denn bei der Fettsäureaktivierung wird Pyrophosphat aus ATP abgespalten. Das wieder freiwerdende AMP benötigt seinerseits 2 energiereiche Bindungen zu seiner Rückverwandlung in ATP (39). Da zur Bildung von 1 Mol ATP 18,1 kCal benötigt werden, sind zur Synthese von 3 Mol TG, die pro Tag im Rahmen des TG-FFS-Substratzyklus neu gebildet werden können, 127 kCal aufzuwenden. Der zyklische Flux im TG-FFS-Substratzyklus ist somit mit einem erheblichen Aufwand an Energie verbunden, die in Form von Wärme freigesetzt wird. Um zu gewährleisten, daß die außerordentlich

aufwendige Erhöhung der regulatorischen Sensitivität nur im Bedarfsfall zur Anwendung kommt, sind bei der Vielzahl ähnlicher Substratzyklen im Körper sehr feine und exakt arbeitende Regulationsmechanismen nötig. Für den TG-FFS-Substratzyklus erfüllt unter anderem Adrenalin einen Hauptfaktor in der Regulation: durch gleichzeitige Steigerung der Lipolyse und der Reveresterung intensiviert es sowohl den zyklischen-, als auch den Nettoflux. Seine wichtigste Funktion dürfte sowohl darin zu suchen sein, daß es sowohl intrazellulär toxische FFS-Akkumulationen rasch ausgleicht, als auch darin, daß es unter hypocalorischen Bedingungen für eine energetische Homöostase sorgt.

In der vorliegenden Arbeit wurden die fraktionelle Oxidation des FFS-Nettotransportes und die direkte FFS-Oxidation im steady state bestimmt und der Anteil der FFS-Oxidation an der Lipidoxidation ermittelt. Damit gelang es, den Umfang der überschießenden FFS-Mobilisation im Rahmen des TG-FFS-Zyklus zu berechnen, und die Unterschiede zwischen Stoffwechselgesunden und Adipösen herauszuarbeiten.

III. DER FFS-TRANSPORT IM 1-KOMPARTIMENT-MODELL

Schon unter normalen, besonders aber unter hypocalorischen Bedingungen liefern FFS einen entscheidenden Beitrag zur Bereitstellung von Energieträgern. Ihr Hauptquellgebiet wird durch das Fettgewebe repräsentiert. Während anfangs nur einfache titrimetrische Methoden Einblick in die Funktion des Fettgewebes als Speicherorgan für FFS gewährten (11, 20, 38), gelang es erst durch Traceruntersuchungen mit radioaktiv markierten Fettsäuren, den FFS-Transport, die FFS-Oxidation, sowie die Synthese von VLDL-TG in ihrem Umfang zu bestimmen und deren Störungen verschiedenen Krankheitsbildern zuzuordnen.

Dabei kam es zur Entwicklung des 1-Kompartiment Modells, das die quantitative Bestimmung des FFS-Transportes vom Speicherorgan durch das Plasmakompartiment zum Zielorgan mit FFS-Utilisation gestattet. Es wird ein extrazellulärer Verteilungsraum angenommen, der die mobilisierten FFS aufnimmt, in dem sie verdünnt und aus dem sie wieder entfernt werden (Abb. 1). Die Grundvoraussetzung, die erfüllt sein muß, damit der FFS-Nettotransport ermittelt werden kann, besteht darin, daß steady state Bedingungen vorhanden sind; dies bedeutet, daß der FFS-Influx in das Plasma dem FFS-Efflux aus dem Plasma zum Utilisationsorgan gleicht. Im Experiment gilt es, einen repräsentativen Tracer zu finden, da der FFS-Pool in vivo aus einer Vielzahl von FFS mit verschiedener Kettenlänge und verschiedenem Sättigungsgrad besteht. Während unter Ruhebedingungen sich die Transportkonstanten verschiedener FFS im Skelettmuskel weitgehend ähneln, bestehen deutliche Unterschiede unter körperlicher Belastung (21). Im Splanchnikusgebiet wiederum ist der K_{FFS}-Wert abhängig von Kettenlänge und Anzahl der Doppelbindungen (8). Ähnliche Bedingungen herrschen im Fettgewebe und

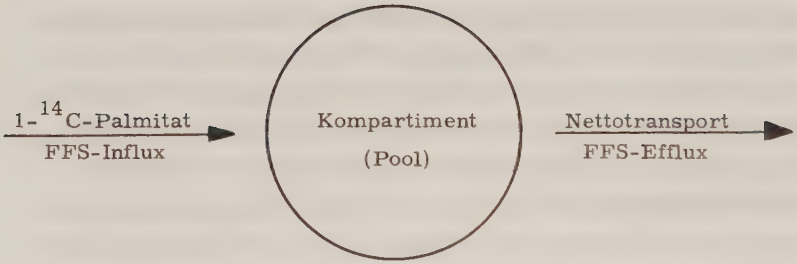

Abb. 1: Schematische Darstellung
des 1-Kompartiment-Modells

anderen Organen vor (28). Trotz dieser unterschiedlichen Bedingungen für die Transportkonstante von FFS kann Palmitat als repräsentativer Tracer gelten, da sein K_{FFS}-Wert mit dem von 80 % aller FFS vergleichbar ist (HAVEL et. al. 1967).

Bei der Untersuchung in vivo wurde 1-^{14}C-Palmitat an Albumin gekoppelt und über einen Zeitraum von 8 h konstant infundiert. Der FFS-/Albumin-Quotient hielt sich auf einem Wert unter 2. Im Verlauf der Infusion stellte sich für die FFS S. A. die geforderte steady state Bedingung ein: FFS-Influx und FFS-Efflux glichen sich weitgehend. Aus den Werten der FFS S. A. nach 8 h und der Infusionsrate des Tracers pro Zeiteinheit läßt sich nach folgender Formel der FFS-Nettotransport berechnen:

$$\text{FFS-Nettotransport } \frac{(\text{mmol})}{(\text{min})} = \frac{1\text{-}^{14}\text{C-Palmitat-Influx (dpm/min)}}{\text{FFS S. A.} \qquad (\text{dpm/mMol})}$$

Die Methode erlaubt es, unabhängig von der möglichen Anzahl zwischengeschalteter Kompartimente, den FFS-Nettotransport mit großer Genauigkeit zu ermitteln. Es sind zwei Vorteile, die die Methode bietet:

a) einfache Versuchsdurchführung und einfache Berechnung,

b) Möglichkeit der Durchführung von steady state Kontrollen.

IV. VERSUCHSABLAUF

Die Stoffwechseluntersuchung wurde an normalgewichtigen, metabolisch gesunden Kontrollpersonen (Broca-Index) und Adipösen (Übergewicht nach Broca 40,95 $\pm$ 9,18 %) durchgeführt. Sie wurden nach diätetischer Beratung gebeten, das Körpergewicht zu kontrollieren und die diätetische Empfehlung (40 % Kohlenhydrate, 40 % Fett, 20 % Eiweiß) einzuhalten (Tab. 1).

Bereits am Vortage der Untersuchung wurden die Kontrollpersonen stationär in der Klinik aufgenommen, wobei sie aufgefordert wurden, nach 17 Uhr keine Nahrung mehr zu sich zu nehmen. Am folgenden Tage wurden sie alle zur gleichen Zeit um 6.15 Uhr mit je einer Kanüle am rechten und linken Arm versehen; diese dienten einerseits der Blutentnahme, andererseits der Infusion des Tracers 1-^{14}C-Palmitat, der komplex an Albumin gebunden und über 8 h infundiert wurde (88 µl/min). Die CO_2 S.A. in der Exspirationsluft und die FFS S.A. im Plasma (Abb. 2) wurden stündlich ermittelt. Im Verlaufe der Infusion steigt die CO_2 S.A. der Exspirationsluft exponentiell an und erreicht 450 min nach Infusionsbeginn 80 % des asymptotischen Wertes. Der Gleichgewichtszustand, bei dem die Co_2 S.A. der Exspirationsluft, die CO_2 S.A. des Bikarbonatpools und die CO_2 S.A. der zellulären Oxidation identisch sind, wird durch den asymtotischen Wert der CO_2 S.A. bei $t = \infty$ repräsentiert.

Die Blutproben wurden sofort auf Eis gestellt, zentrifugiert und weiterverarbeitet.

Zur Bestimmung der CO_2 S.A. wurde die Exspirationsluft stündlich jeweils 5 min lang in Douglassäcken gesammelt und über Waschflaschen mit 250 ml 2 n NaOH geleitet. Als Na_2CO_3 konnte es titrimetrisch bestimmt und die Zerfallsrate im Flüssigkeitsscintillationszähler gemessen werden.

Respiratorische Messungen der O_2-Aufnahme und der CO_2-Abgabe

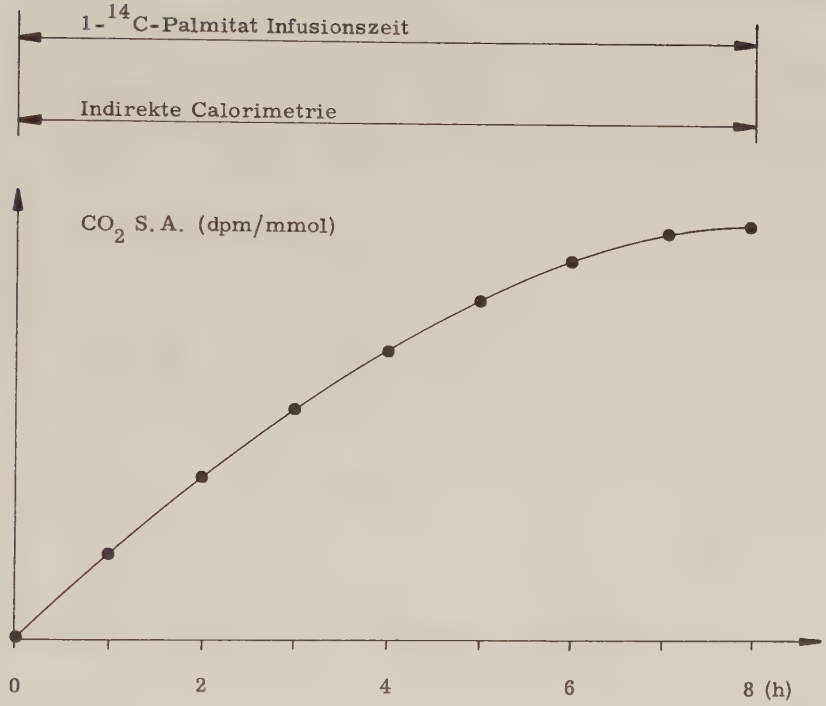

Abb. 2: Versuchsanordnung zur Bestimmung der FFS-Oxidation

wurden im offenen System anhand des Meßschrankes der Firma Hartmann & Braun (Frankfurt am Main) durchgeführt.

FFS wurden nach Extraktion titrimetrisch und gaschromatographisch ermittelt und die FFS S. A. bestimmt. Der K_{FFS}-Wert wurde unter Annahme eines FFS-Verteilungsraumes von 41,3 ml/kg Körpergewicht errechnet.

	n	Alter (Jahre)	Länge (cm)	Gewicht (kg)	Oberfläche (m^2)	Quetelet Bouchard Index (kg/cm)	Broca Index %	♂ n	:	♀ n
Kontr.	42	26,25 ±0,43	175,47 ± 1,330	67,92 ±1,58	1,826 ±0,02	0,3850 ±0,007	89,80 ±1,50	26	:	16
Adip.	41	36,27 ±2,08	171,88 ± 1,390	111,0 ± 2,62	2,204 ±0,02	0,6340 ±0,021	155,8 ± 3,68	20	:	21

Angaben: $\bar{x} \pm$ SEM

Tab. 1: Somatische Daten bei Stoffwechselgesunden (Kontrolle) und Adipositas.

V. ANALYTISCHE METHODEN

1. Messung des O_2-Verbrauchs und der CO_2-Produktion

Die Gasanalysen der Ausatmungsluft wurden mit dem "Oxytest S" und dem "Uras MT" (Firma Hartmann & Braun) durchgeführt.
Durch eine Belüftungspumpe wird eine konstante Menge von 50 l/min Raumluft mit der Exspirationsluft des Probanden angesaugt. Dabei wird eine aus Plastik bestehende Atemhaube verwendet, die mit einem Stativ über dem Kopf des Probanden befestigt wird. Das von der Atemhaube abgesaugte Gasgemisch wird über ein Mischgefäß geleitet; damit wird gewährleistet, daß die nachfolgenden Analysenteile Substrate erhalten, die in ihrer Qualität identisch sind. Die Ausatmungsluft wird nun in den Analysenteil zu O_2- und CO_2-Konzentrationsbestimmung befördert.
Für metabolische Messungen bietet diese Anordnung wichtige Vorteile: bei hoher Meßgenauigkeit werden Atemgasanalysen über eine Dauer von mehreren Stunden unter physiologischen Grundumsatzbedingungen möglich. Dadurch werden systematische Fehler auf kleinster Stufe gehalten.
Da die Ausatemluft im Mittel einen Wasserdampfanteil von 3, 13 Vol% enthält, würde sich ein entsprechender Anzeigefehler einstellen. Dieser Umstand wurde jedoch bei der Eichung im Werk berücksichtigt, so daß der Fehler 1 % nicht über- bzw. unterschreitet.
Die Analysenteile sind auf Normalbedingungen geeicht (0°C Lufttemperatur und 760 mm Hg atmosphärischer Luftdruck).
Um Schwankungen dieser Parameter auszugleichen und Verfälschungen der Meßergebnisse zu verhindern, sind Kompensationsmechanismen eingebaut: über ein Potentiometer sind die Abweichungen vom Normalluftdruck einstellbar, wodurch der Volumenfehler am Anzeigegerät ausgeglichen wird.

1.1. Das Meßprinzip des "Oxytest S"

beruht auf einer physikalischen Besonderheit des Sauerstoffs, nämlich seiner im Vergleich zu den übrigen Luftbestandteilen um zwei Größenordnungen intensiveren magnetischen Suszeptibilität. Wird ein Gasstrom durch ein inhomogenes Magnetfeld geführt, so entsteht durch die Kraftwirkung des Feldes auf die darin enthaltenen O_2-Moleküle ein erhöhter Partialdruck in der Inhomogenitätszone. Der dadurch entstehende Überdruck vor der Inhomogenitätszone ist der O_2-Konzentration direkt proportional.

Meßvorgang: eine Pumpe saugt über Staubschutzfilter einen konstanten Strom des Meßgases und eines Vergleichsgases (Normalluft) an. Aus diesem Gasstrom werden über eine weitere Pumpe zwei Teilströme, bestehend aus Meß- bzw. Vergleichsgas, in die beiden Hälften der Meßkammer gesaugt. Hier sind sie dem inhomogenen Magnetfeld ausgesetzt. Da die Kammerhälften symmetrisch gebaut sind, tritt bei gleicher O_2-Konzentration in Meß- und Vergleichsgas keine Druckdifferenz auf. Nach Änderung der Konzentration jedoch entsteht wegen der unterschiedlichen Suszeptibilität beider Gasanteile eine Differenz der Gasdrucke zwischen den Kammerhälften. Dies ergibt die Auslenkung einer Membran im Druckdifferenzmesser und somit ein verwertbares, der Konzentrationsdifferenz streng proportionales Meßsignal.

Variationskoeffizient a) apparativ: 4,0445 %

b) systematisch: 11,354 %

1.2. Das Meßprinzip des "Uras MT"

gründet sich auf die spezifischen Strahlungsabsorptionsbanden heteroatomiger Gase im ultraroten Bereich der elektromagnetischen Strahlen(λ = 2,5 - 12 µm), da hier ihre Molekülschwingungen ihre Maxima erreichen. Jedes heteroatomige Gas hat sein spezifisches, aus einzelnen Banden bestehendes Absorptionsspektrum. Die Absorption folgt dem "Lambert-Beerschen Gesetz", wonach die Intensität der in das Gas eintretenden Strahlung proportional der austretenden ist, jedoch in Abhängigkeit von dessen Konzentration: $E = \varepsilon . c . d$.

wobei
- E = Extinktionsdifferenz
- ε = Extinktionskoeffizient
- c = Gaskonzentration
- d = Schichtdicke

Meßvorgang: Die Absorption wird in zwei parallelen Strahlengängen mit einem selektiv wirkenden Empfänger gemessen. Das Meßgas wird durch die Analysenkammer geleitet, während die Vergleichsküvette durch ein Flußspatfenster gebildet wird. Das System wird zunächst auf gleicher Temperatur gehalten. Solange die CO_2-Konzentration in beiden Kammerhälften gleich ist, ist auch der Aufheizeffekt der identischen Strahlengänge gleich, so daß keine Druckdifferenzen auftreten. Ändert sich jedoch die CO_2-Konzentration der Meßküvette, so bringt die entstehende Temperatur- bzw. Druckdifferenz zwischen beiden Halbzellen eine Membran im Empfangsteil des Systems zur Auslenkung. Dies bewirkt die proportionale Kapazitätsänderung des aus der Membran selbst und einer Gegenelektrode bestehenden Meßkondensators.

Variationskoeffizient	a)	apparativ	:	3,6955 %
	b)	systematisch	:	10,05 %

Die Meßdaten aus den beiden Analysenteilen werden simultan von einem Kompensationspunktschreiber "Polycomp 2" (Hartmann & Braun) auf einen Papierstreifen ausgedruckt, sowie von einem Digitalschreiber in gleichen Zeitabständen (wahlweise 1 min oder 10 min) als endgültige Zahlenwerte angegeben.

2. Ermittlung des "non-protein-RQ"

Zur Berechnung des Verhältnisses von Kohlenhydrat- zu Fettoxidation, muß auch die Größe der Proteinutilisation bekannt sein. Der Anteil an O_2 bzw. CO_2, an der Eiweißoxidation muß vom Gesamtverbrauch resp. der Gesamtproduktion subtrahiert werden. Aus dem Verhältnis der Restbeträge läßt sich dann der sogenannte "non-protein-RQ" ermitteln.

Ein Maß für den Proteinumsatz ist der pro Zeiteinheit im Urin ausgeschiedene Harnstoffstickstoff, der das Abbauprodukt der Eiweißstoffe ist. Vorausgesetzt, daß der Harnstoff- und Proteinpool in Blut und Gewebe sich unter steady-state Bedingungen befinden, so kann das Ausmaß der Proteinoxidation in direkte Proportionalität zur N-ausscheidung über die Niere gesetzt werden. Dabei besteht folgendes Verhältnis:

1 g ausgeschiedenes N $\hat{=}$ 6,25 g oxidiertes Protein

Aus den Beziehungen:

1 g oxid. Protein $\hat{=}$ 4,1 kCal freigesetzte Energie

1 l verbrauchtes O_2 $\hat{=}$ 4,463 kCal freigesetzte Energie

folgt weiterhin, daß zur Verbrennung von 1 g Protein 0,92 l O_2 nötig sind.

Endgültig kann folgende Beziehung aufgestellt werden:

$$1 \text{ g Stickstoff} \mathrel{\hat{=}} 5,75 \text{ l } O_2$$

Die Bestimmung des Urinstickstoffs wurde mit der von KJELDAHL beschriebenen Methode vorgenommen.

3. Extraktion der Serum-Gesamtlipide
(DOLE et al., 1956)

3.1. Lösungen: Extraktionsgemisch (1 Vol-einheit 2 n H_2SO_4,
10 Vol- einheit n-Heptan,
40 Vol.-einheit i-Propanol)

3.2. Durchführung: In ein "Glas O" 1 ml Serum, 5 ml Extraktionsgemisch geben, 1 min schütteln, 2 ml aqua bidest., 3 ml n-Heptan zufügen, 1 min schütteln. Aus "Glas O" 3 ml der überstehenden Lösung (Heptanphase) in "Glas 1" einpipettieren.

4. Trennung der freien Fettsäuren von den Triglyceriden, Cholesterin und Phospholipiden
(HAVEL et al. 1963)

4.1. Lösungen: 0,5 n äthanolische Natronlauge (NaOH);
6 n Salzsäure (HCl) (Titrisol unverdünnt)
Aqua bidest

4.2. Durchführung: Zu Glas I werden 3 ml 0,5 n äthanol hinzugefügt. NaOH. 1 min schütteln. Nun die Heptanphase von "Glas 1" in "Glas 2" überführen; in "Glas 1" weitere 3 ml Heptan, in "Glas 2" 3 ml 0,5 n NaOH pipettieren; beide Gläser je 1 min schütteln. Die Heptanphase von "Glas 1" in "Glas 3", die aus "Glas 2" in "Glas 4" überführen; die äthanolische Phase aus "Glas 2" in "Glas 3" geben, "Glas 3" 1 min schütteln. Aus "Glas 2" nun die Heptanphase in "Glas 4", die äthanolische Phase in "Glas 1" umpipettieren. Die alkalische Lösung der freien Fettsäuren (FFS) wird nun mit 1 ml 6 n HCl angesäuert und danach mit 6 ml Heptan ausgeschüttelt. Hierbei gelingt deren Extraktion aus der äthanolischen Phase zu 99 %.

4.3. Qualitätskontrolle:

Trennung - Hierzu in 0,9 ml Serum 100 µl Infusionslösung gemischt. Das ganze wird nach dem genannten Verfahren aufgetrennt. Die Extraktion gelingt zu 99,4 % (Vk: 0,37 %); dieser Anteil der markierten FFS erscheint also in der äthanolischen NaOH. Das Ergebnis kann durch gaschromatische Analyse bestätigt werden.

Wiederfindung - Die in diesem Verfahren aufgetrennten FFS werden zu 81,1 % wiedergefunden (Vk : 11,4 %).

5. Ansetzender radioaktiv markierten Zählproben

5.1. freie Fettsäuren:

3 ml der Heptanphase aus "Glas 1" mit den gelösten FFS werden mit 10 ml Scintillationsflüssigkeit (Instagel) in Zählröhrchen pipettiert und gut gemischt. Analog werden auch Infusionslösung und O-Serum eines jeden Probanden behandelt.

5.2. Kohlendioxid:

0,5 ml der 2 n NaOH, in der das CO_2 gelöst vorliegt, werden mit 1 ml 1 n HCl neutralisiert und zusammen mit 10 ml Scintillationsflüssigkeit in Zählröhrchen gegeben und gut vermischt.

Die Proben aus 5.1. und 5.2. werden im Flüssigkeitsscintillationszähler ausgewertet (Vk: 1 %), wobei auch Backgroundwert und Bezugsgröße ermittelt werden. Die A. E. S.-Ratio von O-Serum Proben und Infusionslösung sind statisch einheitlich. Die dpm brauchen daher aus methodischen Gründen nicht bestimmt zu werden.

6. Titrimetrische Bestimmung der FFS

Die titrimetrische Bestimmung der FFS erfolgt nach TROUT et al. (1960).

Die Extraktion der FFS wird wie in V.3. durchgeführt.

6.1. Lösungen:

. 0,001 n Palmitinsäure-Standard;
. 0,009 n äthanolische NaOH-Lösung;
. Indikator (nach SÖLING);
25 mg Thymolblau und
25 mg Kresolrot in 20 ml Äthanol gelöst und mit Heptan ad 40 ml aufgefüllt.
(vor Gebrauch filtrieren!)
. Extraktionsgemisch;
. Heptan;
. Aqua bidest

6.2. Bestimmung:

1 ml Serum zum Extraktionsgemisch geben, 1 min schütteln. Nach Zugabe von 2 ml aqua bidest. und 3 ml Heptan erneut 1 min schütteln; 5 min Phasentrennung abwarten. Die Gläser für Leerwert erhalten anstatt 1 ml Serum 1 ml aqua bidest., die des Standard anstelle von 3 ml Heptan 3 ml Palmitinsäure-Standard. Von der überstehenden Heptanphase werden 3 ml in ein Zentrifugenglas pipettiert. Unmittelbar vor der Titration werden 0,1 ml Indikator zugefügt. Die Titration erfolgt mit der 0,009 n NaOH unter gleichzeitiger Durchströmung mit N_2-Gas (ohne Waschflasche).

6.3. Berechnung:

$$\text{Normalität d. FFS} = \frac{\text{ml NaOH-Verbrauch d. Probe}}{\text{ml NaOH-Verbrauch d. Standard}} \times \text{Normalität d. Ps.} \left(\frac{\text{uMol}}{\text{ml}}\right)$$

(Ps. = Palmitinsäure)

Der Korrekturfaktor der Lauge sowie der Leerwert gehen in die Berechnung ein.

7. Gaschromatische Bestimmung der freien Fettsäuren (G. PETER et al. 1970)

dabei werden erfaßt:

Palmitinsäure	($C_{16:0}$);
Stearinsäure	($C_{18:0}$);
Ölsäure	($C_{18:1}$);
Linolsäure	($C_{18:2}$);
Behensäure	($C_{22:0}$);

Die Fettsäuren werden wieder wie unter V.3. beschrieben, isoliert. Die gaschromatische Analyse wird mit der verdampften Heptanphase durchgeführt.

7.1. Herstellung der Methylester der Fettsäuren

Zu den getrockenten Proben wird je 2 ml BF_3/CH_3OH-Reagens gegeben; das Gemisch wird dann 2 min im kochenden Wasserbad erhitzt und danach mit 30 ml eines 40-60%igen Petroläthers in einen Scheidetrichter gebracht. Nach Zugabe von 30 ml aqua dest. wird das ganze 5 min kräftig geschüttelt. Die wässerige Methanolschicht wird nach Phasentrennung abgetrennt und verworfen. Die Petrolätherschicht wird getrocknet und bei vermindertem Druck von 12 Torr entfernt. Nach Auflösung des Rückstandes in Hexan werden 5 ml davon für die gaschromatische Analyse verwandt.

7.2. Herstellung des Veresterungsreagens

BF_3 wird so lange in 200 ml CH_3OH unter Eiskühlung eingeleitet, bis 25 g BF_3 im CH_3OH gelöst sind. Dabei soll die Einleitung gerade so stark sein, daß keine weißen Nebel aus dem Kolben aufsteigen (Haltbarkeit: 4 Monate).

7.3. Gaschromatographie

Gerät:	5750 (Hewlett-Packard);
Trennsäule:	6 Fuß, 1/4 Zoll i. D. ;
Träger:	Diatopost S, 80 - 100 mesh;
Flüssige Phase:	6 % D E G-S;
Gase:	He: (52 ml/min), H_2: 0, 6 kp/cm^2, Luft: 2, 4 kp/cm^2;
Temperatur:	160-190° C programmiert (6° C/min);
Auswertung:	Höhe x Halbwertsbreite

7.4. Variationskoeffizienten

$C_{16:0}$: 4, 2 % ;

$C_{18:0}$: 5 % ;

$C_{18:1}$: 6, 1 % ;

$C_{18:2}$: 6, 1 % ;

$C_{22:0}$: 5, 5 % .

Für die Überlassung der Methodik zur gaschromatographischen Fettsäurebestimmung gilt mein Dank Herrn Priv. Doz. Dr. rer. nat. G. Peter von der Universitätshautklinik Würzburg.

8. CO_2-Titration und Bestimmung des $^{14}CO_2$

Im Rahmen der Atemgasanalysen wurde zusätzlich die pro Zeiteinheit produzierte Menge an CO_2 bestimmt; mit Hilfe radioaktiver Zählmethoden wird der Anteil an ausgeatmeten CO_2 ermittelt, der unmittelbar aus der Oxidation der Tracersubstanz 1 - ^{14}C-Palmitat stammt. Ziel dieser Methodik ist es, mit Hilfe kinetischer CO_2-Bestimmungen während der Langzeitversuche die Oxidation der freien Fettsäuren zu erfassen.

8.1. Durchführung:

Die Probanden atmen über ein Rubenventil. Die Exspirationsluft gelangt in einen 20 l fassenden Douglassack und wird sofort danach in einer Waschflasche durch 250 ml 2 n NaOH geleitet. Dabei werden praktisch 100 % des Kohlendioxids absorbiert, was experimentell belegt werden konnte.
Der Zeitbedarf des Probanden zum Füllen des Douglassackes wird jeweils registriert.

8.2. Bestimmung des $^{14}CO_2$

Eine 0,5 ml große Probe 2 n NaOH mit dem gelösten CO_2 werden in ein Zählgläschen pipettiert, mit 1 ml 1 n HCl neutralisiert (Löslichmachen in Instagel) und im Scintillationszähler ausgewertet. Die Exhalation des markierten CO_2/min errechnet sich nach der Formel:

$$^{14}CO_2\ (dpm) = \frac{counts \cdot 500 \cdot 60}{Atmungszeit\ (sec)}$$

hierbei bedeuten: 500 = Volumenfaktor
60 = Umrechnungsfaktor von sec auf min

9. Titrimetrische Bestimmung des Gesamt-CO_2

Zur Titration werden 4 ml der 2 n NaOH eingesetzt. Es muß darauf geachtet werden, daß die Proben auch während des Titrationsvorganges auf einer Temperatur von $0^{\circ}C$, zur Reduktion des CO_2-Dampfdruckes, gehalten werden. Im stark alkalischen Milieu der Natronlauge liegt das gesamte gelöste Kohlendioxid als Karbonat vor (Na_2CO_3). Die titrimetrische Bestimmung erfolgt erst nach Überführung von 50 % des Na_2CO_3 in $NaHCO_3^-$, also beim pH-Wert von 8,3 (dem pK_s-Wert des CO_2 und HCO_3 Säure-Basenpaares). Eine Senkung des pH-Werte um eine Einheit würde bedeuten, daß 99 % des Karbonat in Bikarbonat umgewandelt wurde. Am Endpunkt der Titration bei pH 3,3 liegt demzufolge nur noch 0,0001 % Na_2CO_3 vor. Die Menge an 0,1 n HCl, die um pH 3,3 zu erreichen repräsentiert das Titrationsergebnis.
Variationskoeffizient: 0,3 %

10. Formeln

Berechnung der Gesamt-CO_2-Produktion:

$$mVal = \frac{mVal\ (titriert) \cdot 62,5}{Atmungszeit\ (sec)}$$

dabei bedeutet 62,5 einen Volumenfaktor bei der Titration

Aus den Ergebnissen der radioaktiven CO_2-Bestimmung und der Titration des Gesamt-CO_2 läßt sich nun die spezifische Aktivität ermitteln:

$$SA = \frac{CO_2(dpm)}{mMol/ml}$$

Nur diese Größe läßt eine Aussage Steady-State-Änderungen der CO_2-Produktion zu.

Von besonderem Interesse sind nun die Zusammenhänge zwischen Stoffwechsel und Oxidation der freien Fettsäuren.
Die Exhalation von ^{14}C-markiertem CO_2, das aus der Oxidation freier Fettsäuren stammt, erreicht bei konstanter Infusion von 1-^{14}C-Palmitinsäure nach acht Stunden ihren Plateauwert. Der Anstieg folgt einer Exponentialfunktion. Dieser Umstand wurde 1972 von BORTZ et al. zuerst erkannt und von MALMENDIER et al. 1974 bestätigt. Unter Annahme dieser Substratkinetik können folgende Grundgrößen errechnet werden, die den Zusammenhang zwischen Fettsäurestoffwechsel und -oxidation herstellen:

a) prozentualer FFS-Umsatz, der oxidiert wurde:

$$\text{"Recovery \%"} = \frac{CO_2\ \text{S. A.} \times CO_2}{\text{Inf.lsg.}} \qquad (1)$$

b) FFS oxidiert:

$$FFS_{(ox)} = \frac{SA(CO_2)\ t\ 8\ h \times CO_2}{\text{FFS S. A.}} \qquad \left(\frac{\text{mMol}}{\text{min}}\right)$$

c) % CO_2 aus der Oxidation der freien Fettsäuren:

$$\%\ CO_{2(FFS)} = \frac{SA(CO_2)\ t\ 8\ h \times 1700}{\text{FFS S. A.}} \qquad (1)$$

d) fraktionelle Oxidation des FFS-Transportes:

$$\text{fr. Ox. d. FFS-Tr.} = \frac{CO_2\ SA\ (t = 8h) \times CO_2\text{-Efflux}}{1\text{-}^{14}C\text{-Palmitat Influx}}$$

e) FFS-Transportkonstante

$$K_{FFS}(min^{-1}) = \frac{\text{FFS-Transport (mMol/min)}}{\text{Plasma FFS-Pool (mMol)}}$$

Angaben für S. A. in dpm/mMol, für CO_2-Efflux in mMol/min. Der 1-^{14}C-Palmitat-Influx wurde auf 100000 dpm/min und Proband korrigiert.

VI. CHEMIKALIEN

Aqua pro injektione	H_2O			
Alkohol absolut	C_2H_5OH	p.a.	Art. 972	Merck
Essigsäure	CH_3COOH	p.a.	Art. 90062	Merck
Essigsäureäthylester	$C_4H_8O_2$	p.a.	Art. 9623	Merck
Heptan	C_7H_{16}	p.a.	Art. 4366	Merck
Humanalbumin (20 %, salzarm)				Boehringer

Infusionslösung:

Die Palmitinsäure liegt in Benzinlösung vor; das Lösungsmittel wird im N_2-Strom verdunstet. Der Palmitinsäurerückstand wird in physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst und an 10 ml 20%iges Humanalbumin gekoppelt. Das ganze gelangt über einen Membranfilter (Elimination bakterieller Verunreinigungen) in eine 50 ml fassende Infusionsspritze. Ein Aliquot der Lösung wird auf Pyrogenität untersucht.

Instagel				Packard/Ffm
Kresolrot			Art. 5225	Merck
Natriumchlorid	NaCl	p.a.	Art. 6404	Merck
Natriumchlorid-Lsg. (isotonisch, steril, pyrogenfrei)				Fresenius
Natriumbikarbonat	$NaHCO_3$	p.a.	Art. 6329	Merck
Natriumhydroxid	NaOH	p.a.		
a) Plätzchen			Art. 6482	Merck
b) 1 n			Art. 9137	Merck
c) 2 n			Art. 9136	Merck
Palmitinsäure	$C_{16}H_{32}O_2$		Art. 31389	Merck
1-^{14}C-Palmitinsäure	$C_{16}H_{32}O_2$ (SA.: 50 µCi/mMol)			Amersham Buchler
Perchlorsäure (70 %)	$HClO_4$		Art. 519	Merck
Propanol-2	C_3H_7CH	p.a.	Art. 9634	Merck
Salzsäure	HCl	p.a.		
a) 0,1 n			Art. 9060	Merck
b) 1 n			Art. 9057	Merck
c) 6 n (Titrisol)			Art. 9970	Merck
Schwefelsäure	H_2SO_4 1n		Art. 9072	Merck
Thymolblau	$C_{27}H_{30}O_5S$		Art. 8176	Merck

VII. GERÄTE

Infusionspumpe Unita I	Ba. Braun (Melsungen)
Infusionsspritze (50 ml) Art. 5607	B. Braun (Melsungen)
Infusionsleitung Art. 72295	B. Braun (Melsungen)
Membranfilter St/PCS 12	Sartorius Membranfilter Göttingen
Packard Tri-carb liquid Scintillation-Spektrometer Modell 3380	Fa. Packard (Frankfurt/Main)
pH-Meter 26	Radiometer Copenhagen
Titrator 11	Radiometer Copenhagen
Autoburette ABU 12	Radiometer Copenhagen
Uras MT	Hartmann & Braun
Oxytest S	Hartmann & Braun

VIII. STATISTISCHE ANALYSE

Die statistische Bearbeitung und Auswertung der Daten wurde im Rechenzentrum der Universität Würzburg mit dem System TR 440 der Firma Telefunken vorgenommen. Signifikanzberechnungen zwischen den Probandengruppen wurden mit dem ungepaarten T-Test erstellt. Die statistische Abhängigkeit experimentell erhaltener Parameter wurde mit dem Spearmanschen Korrelationskoeffizienten bestimmt. Der Vergleich gepaarter Werte wurde mit dem gepaarten T-Test durchgeführt.

IX. ERGEBNISSE

1. Die fraktionelle Oxidation des FFS-Nettotransportes

Bei der konstanten Langzeitinfusion von albumingebundener $1^{14}C$-Palmitinsäure über insgesamt 8 Stunden steigt die CO_2 S.A. in der Ausatmungsluft exponentiell an und nähert sich nach 6 Stunden bei konstantem CO_2-Efflux einem asymptotischen Wert (Abb. 3, 4). Analog steigen auch alle übrigen Größen im Verlauf der $1^{14}C$-Palmitat-Infusion an, deren Berechnungsgrundlage die CO_2 S.A. darstellt.

a) die FFS-Oxidation (Abb. 5)
b) der Anteil der FFS am CO_2-Efflux
c) die fraktionelle Oxidation des FFS-Nettotransportes (Abb. 4)

Auch beim Adipösen läßt sich, wie beim Stoffwechselgesunden, der asymptotische Anstieg der Kurve nachweisen.

Beim Stoffwechselgesunden wird, gemessen nach 8stündiger Infusion $37,12 \pm 1,32$ % des FFS-Transportes oxidiert. Beim Adipösen liegt dieser Wert mit $22,68 \pm 2,41$ % deutlich niedriger.

2. Die FFS-Oxidation als Funktion I. Ordnung der FFS-Konzentration und des FFS-Nettotransportes

Weder beim Stoffwechselgesunden, noch beim Adipösen liegt eine Beeinflussung der fraktionellen Oxidation des FFS-Nettotransportes durch die FFS-Konzentration bzw. den FFS-Transport vor. Die lineare Beziehung zwischen diesen beiden Größen kann jedoch als Beweis dafür gelten, daß die direkte FFS-Oxidation in unmittelbarer

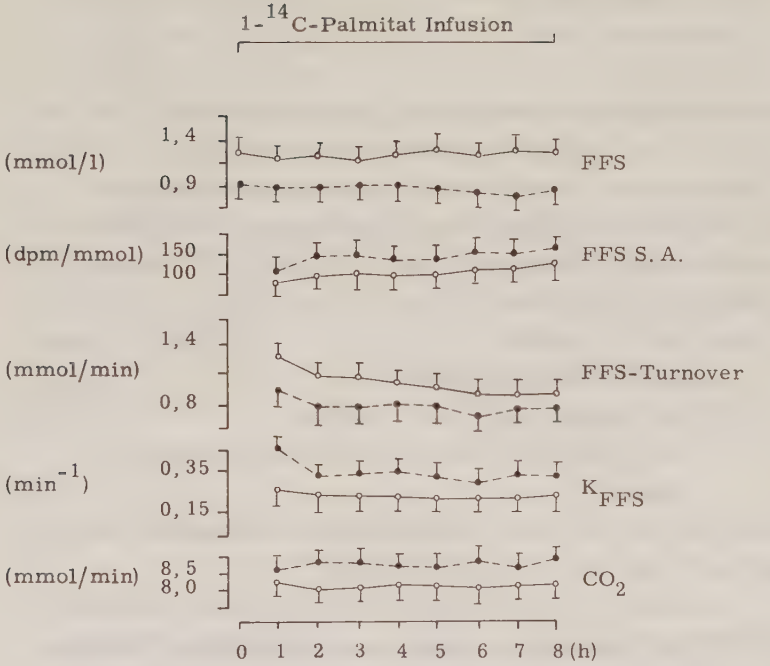

Abb. 3: Plasma-FFS-, FFS S.A., FFS-Turnover, FFS-Transportkonstante (K_{FFS}), und CO_2-Abgabe bei Stoffwechselgesunden (Kontrolle) •---•---• und Adipositas o——o——o unter Langzeitinfusion von 1-^{14}C-Palmitat.

Adipositas : n = 6

Kontrolle : n = 6

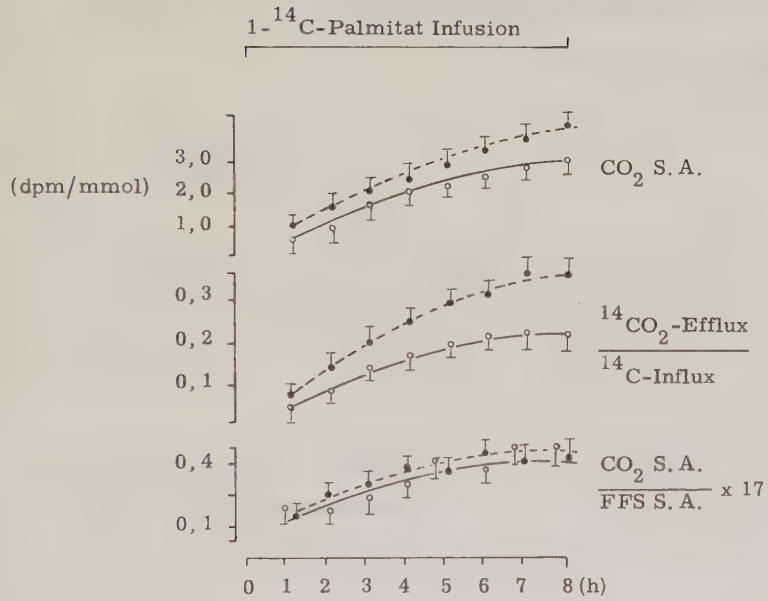

Abb. 4: CO_2 S.A., fraktionelle Oxidation des FFS-Transportes ($^{14}CO_2$-Efflux x ^{14}C-Influx^{-1}) und FFS-Anteil an der CO_2-Abgabe (CO_2 S.A. x 17 x FFS S.A.$^{-1}$) bei Stoffwechselgesunden (Kontrolle) •---•---• und Adipositas o—o unter Langzeitinfusion von 1-^{14}C-Palmitat.

Adipositas : n = 6

Kontrolle : n = 6

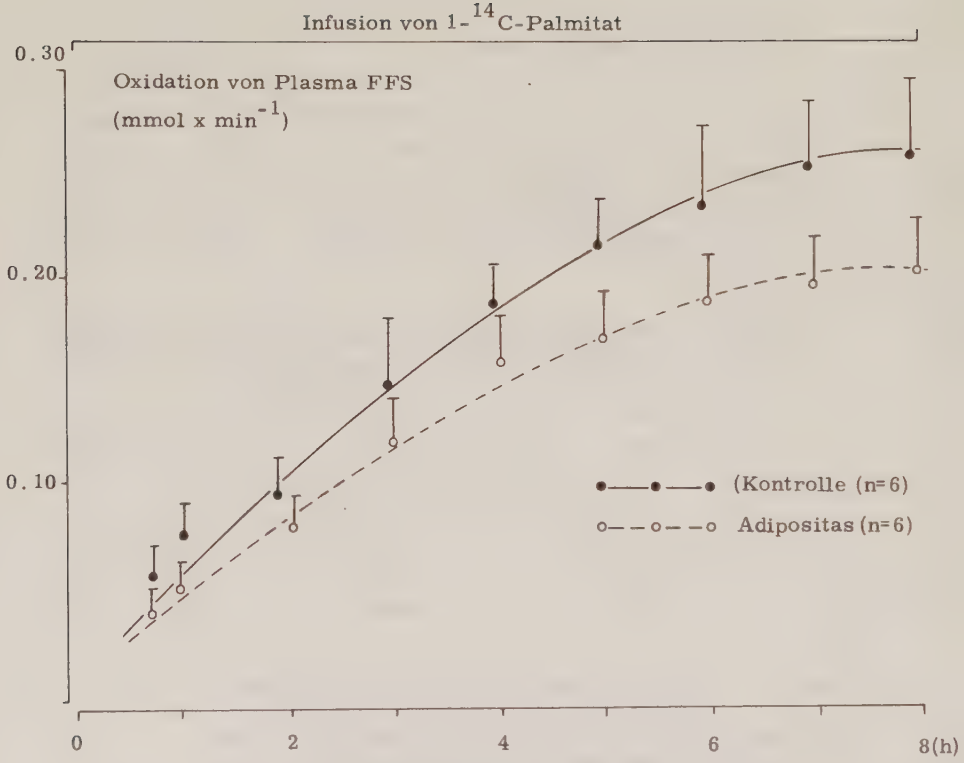

Abb. 5: Die direkte Oxidation der Plasma FFS als Funktion der Zeit bei Stoffwechselgesunden (Kontrolle), und Adipositas während der Langzeitinfusion von 1-^{14}C Palmitat.

Abhängigkeit zur FFS-Konzentration und zum FFS-Transport steht und damit eine Funktion I. Ordnung dieser beiden Größen ist (Abb. 6,7). Es ist deshalb nicht möglich, die verminderte fraktionelle Oxidation des FFS-Nettotransportes bei der Adipositas im Vergleich zu normalen Verhältnissen von einem gesteigerten FFS-Transport abzuleiten.

3. Der Anteil der direkten FFS-Oxidation an der Lipidoxidation

Die Langzeitinfusion von 1 ^{14}C-Palmitat ermöglicht die direkte Bestimmung der FFS-Oxidation. Bei übereinstimmender diätetischer Vorbehandlung liegt die direkte FFS-Oxidation bei beiden Beobachtungsgruppen in der gleichen Größenordnung, obwohl deutliche Unterschiede in der fraktionellen Oxidation des Nettotransportes vorliegen (Abb. 5). Da die Lipidoxidation und die FFS-Oxidation gleichermaßen bekannt sind, kann der Anteil der direkt oxidierten plasmatischen FFS an der Gesamtlipidoxidation berechnet werden. Bei Stoffwechselgesunden liegt der Wert bei 69,34 $\pm$ 4,04 %, während beim Adipösen 72,24 $\pm$ 5,50 % ermittelt wurden. Der N-freie respiratorische Quotient wurde wegen der 8stündigen Infusion erst insgesamt 23 h nach der letzten Nahrungsaufnahme bestimmt. Aus diesem Grund stieg sein Mittelwert nicht über 0,8 (Tab. 2). Nach Ermittlung der Korrelation zwischen direkter FFS-Oxidation und der Lipidoxidation konnte man für Stoffwechselgesunde und Adipöse signifikante Beziehungen finden; die Korrelationsgleichungen beider Gruppen waren vergleichbar (Abb. 8).

In ähnlichen Untersuchungen, bei denen der radioaktiv markierte Tracer nur über 1 Stunde konstant infundiert wurde (55, 56) wurden ebenfalls die direkte FFS-Oxidation gleichzeitig mit der Lipidoxidation bestimmt (Tab. 3). Da in diesem Falle jedoch die CO_2-S.A. ihren

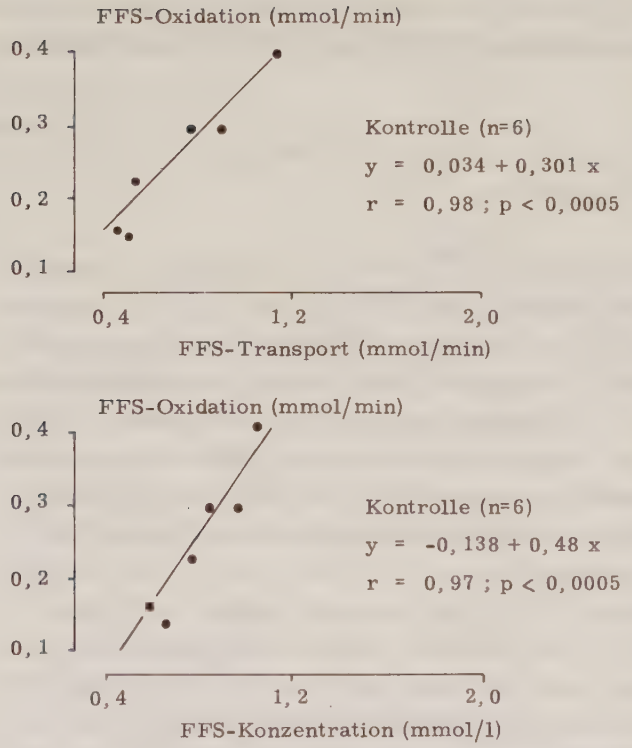

Abb. 6: Die direkte FFS-Oxidation als Funktion 1. Ordnung des FFS-Transportes und der FFS-Konzentration im Plasma bei Stoffwechselgesunden (Kontrolle).

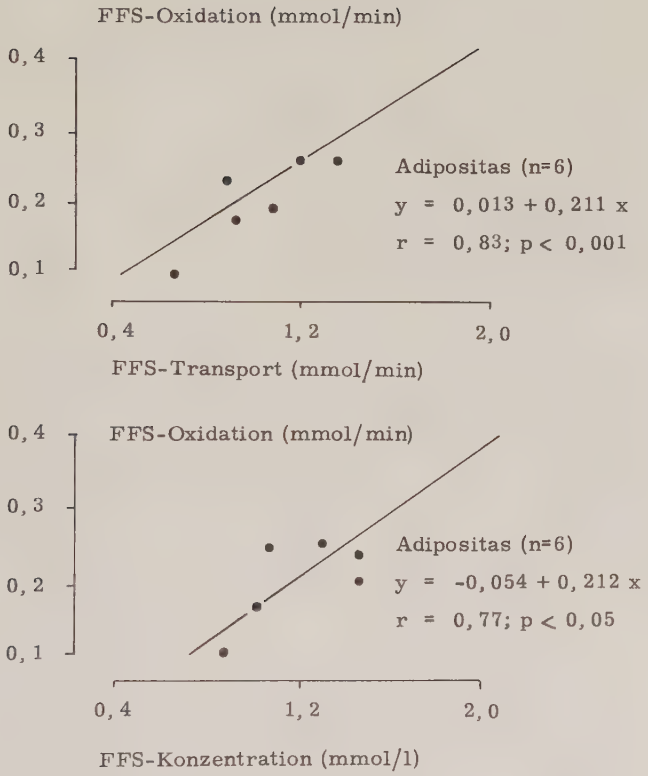

Abb. 7: Die direkte FFS-Oxidation als Funktion 1. Ordnung des FFS-Transportes und der FFS-Konzentration im Plasma bei Adipositas.

	Energieumsatz (Cal) $(min)^{-1}$	$(m^2 \times min)^{-1}$	Lipidoxidation (Cal) $(min)^{-1}$	$(m^2 \times min)^{-1}$	FFS-Oxidation (Cal) $(min)^{-1}$	$(m^2 \times min)^{-1}$	RQ	n
Kontr.	1243,0 ±80,94	691,63 ±37,46	906,33 ±92,75	504,85 ±49,24	637,00 ±89,06	355,94 ±51,76	0,745 ±0,02	6
Adip.	1173,0 ±112,2	601,89 ±50,33	769,91 ±112,1	393,08 ±52,75	570,00 ±105,3	290,43 ±50,94	0,758 ±0,02	6

Tab. 2: Energieumsatz, Sustratoxidation und N-freier RQ bei Stoffwechselgesunden (Kontrolle) und Adipositas. Wegen gleichzeitiger Bestimmung der direkten FFS-Oxidation mit 1-^{14}C-Palmitat wurden die Werte erst nach 23stündiger Nahrungskarenz ermittelt (SCHÖNBORN et al., 1974).

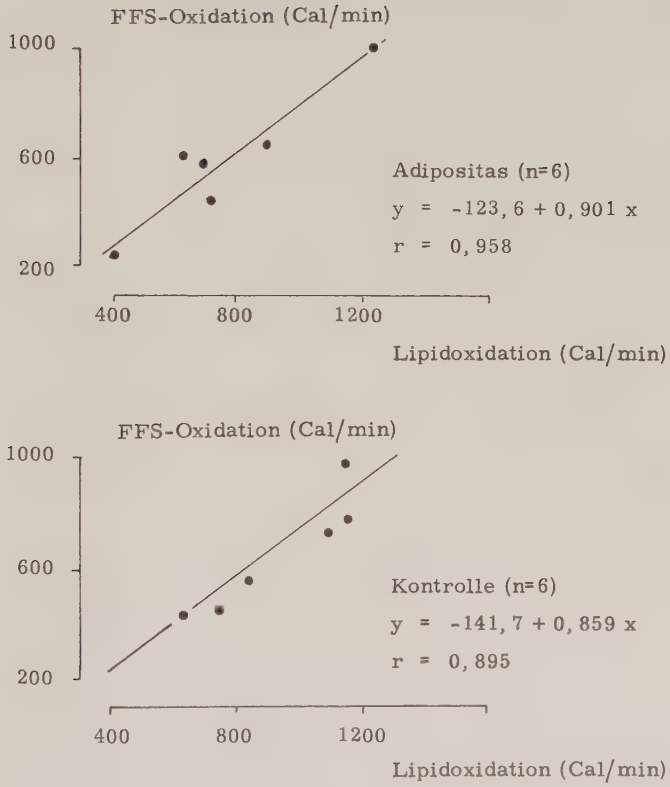

Abb. 8: Die direkte FFS-Oxidation als Funktion der Lipidoxidation bei Stoffwechselgesunden (Kontrolle) und Adipositas.

	Energieumsatz (Cal) $(min)^{-1}$	Energieumsatz (Cal) $(m^2 \times min)^{-1}$	Lipidoxidation (Cal) $(min)^{-1}$	Lipidoxidation (Cal) $(m^2 \times min)^{-1}$	FFS-Oxidation (Cal) $(min)^{-1}$	FFS-Oxidation (Cal) $(m^2 \times min)^{-1}$	RQ	n
Kontr. ♂	1294,0 ±51,34	680,0 ± 26,4	488,11 ±40,93	255,89 ±21,14	110,40 ±10,13	57,79 ±5,28	0,8640 ±0,009	26
Kontr. ♀	1184,0 ±70,47	707,1 ±43,5	434,56 ±49,64	259,58 ±30,13	116,26 ±10,56	69,98 ±6,26	0,8670 ±0,010	16
Kontr. ♂♀	1245,0 ±41,79	690,0 ±22,0	460,57 ±31,75	256,49 ±14,91	112,63 ±7,370	62,04 ±3,89	0,8650 ±0,006	42

Tab. 3: Energieumsatz, Lipid- und FFS-Oxidation sowie N-freier RQ bei ♀ und ♂ Stoffwechselgesunden nach 15stündiger Nahrungskarenz und konstanter Infusion von 1-^{14}C-Palmitat über 60 min.

steady state Wert noch nicht erreicht hatte, ergaben sich für die FFS-Oxidation falsch niedrige Werte. Erst wenn man die prozentualen Änderungen der FFS-Oxidation mit denjenigen der Lipidoxidation nach 7tägiger Behandlung mit Reduktionsdiäten vergleicht, ergibt sich wieder eine signifikante Korrelation (Abb. 9): die Steigerung der Lipidoxidation um 100 % führt gemäß der Beziehung zu einer Steigerung der FFS-Oxidation um 60 % (Abb. 9).

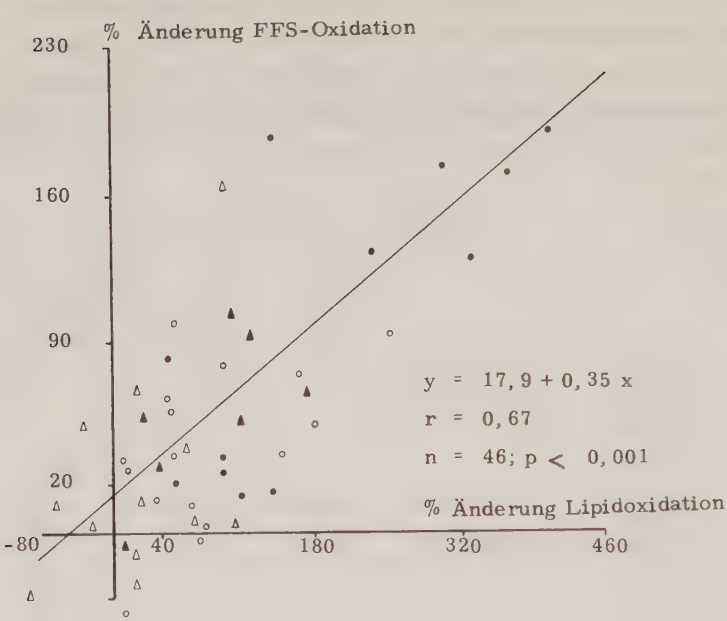

Abb. 10: Die Änderung der direkten FFS-Oxidation (%) als Funktion der Lipidoxidation (%) nach 7-tägiger Anwendung fett- (F) und kohlenhydratreicher (KH) Reduktionsdiäten (SCHÖNBORN et al., 1974).

● 1000 kCal F
○ 2000 kCal F
▲ 1000 kCal KH
△ 2000 kCal KH

X. DISKUSSION

Die bereits während früherer Untersuchungen beobachtete Tatsache, daß FFS überschießend mobilisiert werden, wurde mit der Vorstellung in Verbindung gebracht, daß nur ein Teil der freigesetzten Fettsäuren zur Oxidation gelangen würden (12). STEINBERG (1963) beobachtete nach Katecholaminstimulation in vitro eine im Vergleich zur Oxidation 3-4mal größere FFS-Mobilisation: während der O_2-Verbrauch nur um 20 % anwuchs, steigerte sich der FFS-Umsatz um den Faktor 3 bis 4. ISSEKUTZ et al. (1968) hatten bei ihren Untersuchungen mit normalgewichtigen Probanden eine mittlere fraktionelle Oxidation des FFS-Nettotransportes von 34 % ermittelt. Da die Lipidoxidation eine Funktion I. Ordnung der FFS-Plasmakonzentration ist, wird die fraktionelle Oxidation des FFS-Nettotransportes weder durch die FFS-Konzentration, noch durch den FFS-Transport meßbar beeinflußt (31, 33, 44, 51, Abb. 6, 7 und 10). In den vorliegenden Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, daß die fraktionelle Oxidation des FFS-Nettotransportes bei Adipositas niedriger liegt, als unter normalen Stoffwechselbedingungen (Abb. 4). Es gelingt jedoch nicht, diesen Tatbestand mit der gesteigerten FFS-Konzentration bei dieser Stoffwechselerkrankung zu erklären, da auch bei der Adipositas die FFS-Oxidation eine Funktion I. Ordnung der FFS-Konzentration ist (Abb. 6 und 7). In der erwähnten Arbeit von ISSEKUTZ et al. wurde die fraktionelle Oxidation des FFS-Nettotransportes auch bei Adipösen im Rahmen einer Langzeitinfusion von 1 ^{14}C-Palmitat untersucht. Dabei wurden bei 3 von 4 Patienten Werte unter 30 % ermittelt, die bei Stoffwechselgesunden nie aufgetreten waren.

Trotz der statistischen Unsicherheit dieser Befunde infolge des geringen Umfanges des Kollektivs schloß man daraus, daß bei Stoffwechselgesunden und Adipösen der gleiche Anteil des FFS-Nettotransportes oxidiert wird.

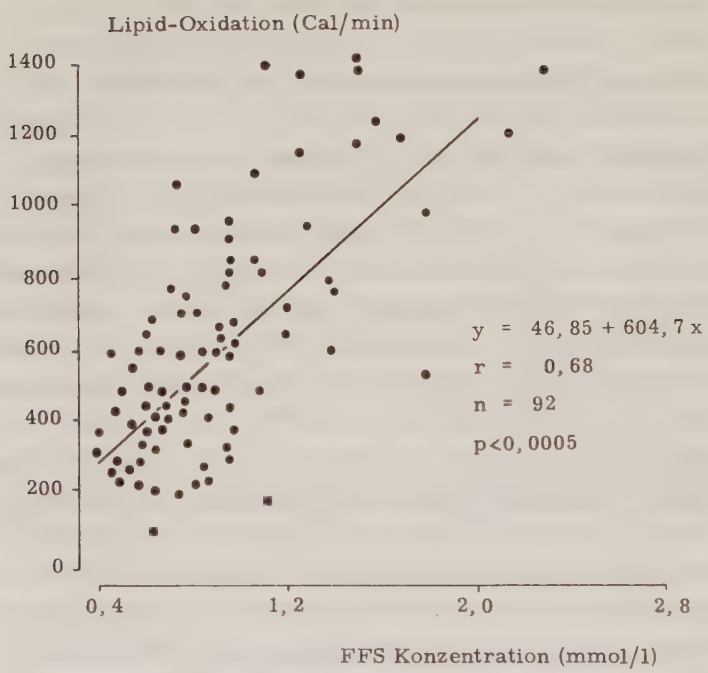

Abb. 10: Die Lipid-Oxidation als Funktion der FFS Konzentration im Plasma

Die Reduktion der fraktionellen Oxidation des FFS-Nettotransportes beim Adipösen könnte dadurch erklärt werden, daß das markierte Acetyl-CoA, das aus der Spaltung von 1-^{14}C-Palmitat stammt, in einem vergrößerten Acetyl-CoA-Pool verdünnt würde. Es würden deshalb falsch niedrige Werte für die fraktionelle Oxidation, die direkte Oxidation und deren Anteil an der Lipidoxidation resultieren. Da bei der Adipositas eine erhöhte FFS-Mobilisation vorherrscht, liegt tatsächlich ein erhöhter mitochondrialer Acetyl-CoA Gehalt vor (68). Die vorliegenden Untersuchungen belegen demgegenüber jedoch, daß weder beim Stoffwechselgesunden noch beim Adipösen eine Beeinflussung der fraktionellen Oxidation des FFS-Nettotransportes durch die FFS-Konzentration und den FFS-Transport zu beobachten ist (Abb. 6 und 7). Auch findet man weder für die direkte Oxidation von FFS (Abb. 5) noch für deren Anteil an der Lipidoxidation (Abb. 8) dem Stoffwechselgesunden gegenüber erniedrigte Werte. Letztlich wäre zu berücksichtigen, daß unter steady-state-Bedingungen bei konstanter Langzeitinfusion von 1-^{14}C-Palmitat zwischengeschaltete Kompartimente und deren Poolgrößen keinen Einfluß auf das Ergebnis haben.

Eine weitere Erklärungsmöglichkeit für die Reduktion der fraktionellen Oxidation des FFS-Nettotransportes bei Adipositas bestünde in einer Änderung des mitochondrialen Redoxzustandes. Tatsächlich reduziert ein erhöhter mitochondrialer $NADH_2$/NAD-Quotient in der Leber die Citratsynthese aus Oxalacetat und Acetyl-CoA. Bei einem stärker reduzierten Zustand der Mitochondrienmatrix könnte man unter dieser Voraussetzung mit einer verminderten Utilisation von Acetyl-CoA in der Endoxidation rechnen. Klinische Untersuchungen beim Gesunden und beim Patienten mit peripherer arterieller Verschlußkrankheit belegten eine verminderte fraktionelle Oxidation des FFS-Nettotransportes bei gestiegenem Lactat/Pyruvat-Quotienten (22), der jedoch nur den cytoplasmatischen Redox-Zustand repräsentiert. Der mito-

chondriale Redox-Zustand hingegen spiegelt sich im ß-Hydroxybutyrat/Acetacetat-Quotienten wider (35). Auch die Verminderung des Redoxquotienten durch O_2-Minderversorgung bewirkt eine Verkleinerung der FFS-Oxidation, obwohl die FFS Aufnahme am ischämischen Myocard (48, 49) unverändert ist.
Zwar ist bei der Adipositas die Lactatkonzentration im Plasma erhöht; verläßliche Angaben über den Lactat/Pyruvat-Quotienten sind jedoch in der Literatur nicht zu finden. Auch Werte aus den vorliegenden Untersuchungen sind wegen der großen Streuung kaum von Aussagekraft. So ist auch eine Beziehung zwischen dem Lactat/Pyruvat-Quotienten und der fraktionellen Oxidation des FFS-Nettotransportes nicht erkennbar.

Sowohl unter Ruhebedingungen, wie auch unter körperlicher Belastung beträgt der Anteil der direkten FFS-Oxidation an der Lipidoxidation der Skelettmuskulatur maximal 50 % (26, 69). Bei den vorliegenden Untersuchungen betrug der Anteil oxidierter FFS an der Lipidoxidation jedoch 70 %. Dieser Wert wurde allerdings nach 23stündiger Nahrungskarenz bei maximal gesteigerter Lipidoxidation erhalten. Nach 16stündiger Nahrungskarenz dürfte gemäß der Korrelationsgleichung der Anteil der FFS-Oxidation an der Lipidoxidation um 50 % liegen.
Da das Energiedefizit zwischen direkter FFS-Oxidation und Lipidoxidation in keinem Fall durch Ketonkörper gedeckt werden kann (69), sind endogene TG-Speicher notwendig, deren Existenz bekannt ist (14) und deren endogene Energiereserve für Myocard (10, 37) und Skelettmuskulatur (13) vermutet wurde. Ihre Größe wird mit 0,4 - 0,7 µMol/g Muskulatur angegeben (21, 25).
Der Überschuß an mobilisierten FFS kann einerseits in der Leber zu VLDL verestert werden oder, zum kleineren Teil, direkt im Fettgewebe aufgenommen werden (7).

Damit könnte die physiologische Bedeutung der in Kap. II.3 beschrie-

benen überschießenden FFS-Mobilisation zum einen in deren Verknüpfung mit dem TG-FFS-Substrat-Zyklus, zum anderen aber darin liegen, daß ein relativ großer Teil der FFS erst nach Inkorporation in den muskulären TG-Pool oxidiert wird. Die Funktion von Substratzyklen besteht in der Steigerung der regulatorischen Sensitivität von Stoffwechselvorgängen gegenüber abrupten Änderungen von Substrat und Cosubstratkonzentrationen (46).
Ein Maß für die regulatorische Sensitivität ist der Quotient aus zyklischem Flux und Nettoflux. Obwohl dieser Regulationsmechanismus mit einem hohen Energieverbrauch belastet ist, findet er im Organismus auch unter Streßbedingungen Anwendung. Das regulatorische Prinzip des TG-FFS-Substratzyklus mit der überschießenden FFS-Mobilisation scheint besonders im Hinblick auf die Vermeidung von intrazellulären FFS-Akkumulationen und deren toxischer Folgewirkungen deutbar zu sein.

ZUSAMMENFASSUNG

Ziel der Untersuchungen war es, den Umfang der überschießenden FFS-Mobilisation im Rahmen des TG-FFS-Substratzyklus zu bestimmen, um daraus die Unterschiede zwischen Stoffwechselgesunden und Adipösen zu ermitteln. Hierfür wurde die fraktionelle Oxidation des FFS-Nettotransportes, die direkte Oxidation freier Fettsäuren sowie der Anteil der FFS-Oxidation an der Lipidoxidation im steady state bestimmt.

Die theoretische Grundlage für die Untersuchungen im steady state lieferte die kinetische Methode des 1-Kompartiment-Modells, im Rahmen dessen Palmitinsäure als radioaktiv markierter Tracer über eine Zeitdauer von acht Stunden konstant infundiert wurde. Dabei erreicht die CO_2 S.A. der Exspirationsluft 80 % ihres asymptotischen Wertes, der den Gleichgewichtszustand repräsentiert. Bei ihm sind die CO_2 S.A. des Bikarbonat-Pools und die CO_2 S.A. der zellulären Oxidation mit der CO_2 S.A. der Ausatmungsluft identisch.

Bei den Untersuchungen wurden folgende Ergebnisse erzielt:

Die mittlere fraktionelle Oxidation des FFS-Nettotransportes beträgt unter Ruhebedingungen beim Stoffwechselgesunden 34,7 % (Mittelwert aus 6-, 7-, und 8-Stundenwerten). Die FFS-Mobilisation ist somit dreimal größer als die FFS-Oxidation.

Bei Adipositas ist die fraktionelle Oxidation des FFS-Nettotransportes auf einen Durchschnittswert von 22,7 % verringert.

Die reduzierte fraktionelle Oxidation beim Adipösen kann nicht Folge des gesteigerten FFS-Transportes sein, da die direkte Oxidation eine Funktion 1. Ordnung der FFS-Konzentration und des FFS-Transportes ist.

Die fraktionelle Oxidation des FFS-Nettotransportes wurde im Rahmen eines Langzeitversuches mit 1^{14}C-Palmitat im steady state bestimmt. Aus diesem Grund scheiden methodische Ursachen und unterschiedliche Poolgrößen zwischengeschalteter Kom-

partimente für die verminderte fraktionelle Oxidation bei der Adipositas aus.
Der Anteil der FFS-Oxidation an der Lipidoxidation beträgt nach 23stündiger Nachrungskarenz durchschnittlich 70 %. Nach 16stündiger Nahrungskarenz beträgt der rechnerische Wert für den Anteil der FFS-Oxidation an der Lipidoxidation entsprechend der Korrelationsgleichung 50 %.

Die fraktionelle Oxidation, die 34 % des Nettotransportes beträgt, wird weder durch die FFS-Konzentration, noch durch den FFS-Nettotransport beeinflußt, da die Lipidoxidation eine Funktion 1. Ordnung der FFS-Plasmakonzentration ist. Auch bei der Adipositas besteht die lineare Funktion zwischen FFS-Konzentration und -Oxidation, so daß die verminderte fraktionelle Oxidation des FFS-Nettotransportes bei dieser Stoffwechselkrankheit nicht Folge einer gesteigerten FFS-Konzentration ist.
Die verminderte fraktionelle Oxidation des FFS-Nettotransportes bei Adipositas kann auch nicht Folge einer stärkeren Verdünnung des Tracers in einem größeren Acetyl-CoA-Pool sein, da in den vorliegenden Untersuchungen nachgewiesen werden konnte, daß bei beiden Kollektiven keine Beeinflussung durch die FFS-Konzentration und den FFS-Transport vorliegt.
Auch ein veränderter mitochondrialer Redoxzustand bei Adipositas kann nicht als Grund für eine Verminderung der fraktionellen Oxidation verantwortlich gemacht werden, da sowohl aus der Literatur, als auch in den eigenen Untersuchungen verläßliche Werte über die ß-Hydroxybutyrat/Acetacetat- und Lactat/Pyruvat-Quotienten wegen der starken Streuung nicht erhoben werden konnten.
Der Anteil der direkten FFS-Oxidation an der Lipidoxidation beträgt nach 23stündiger Nahrungskarenz maximal 70 %. Nach

16stündiger Nahrungskarenz werden maximal 50 % erreicht. Das Energiedefizit zwischen direkter FFS-Oxidation und Lipidoxidation wird aus endogenen TG-Speichern bestritten (21).

Die physiologische Bedeutung der überschießenden FFS-Mobilisation und der verminderten fraktionellen Oxidation des FFS-Nettotransportes bei Adipositas könnte in einer Steigerung der regulatorischen Sensitivität des TG-FFS-Substratcyclus begründet sein. Denn die regulatorische Sensitivität des FFS-Stoffwechsels steigt mit der Abnahme der fraktionellen FFS-Oxidation und der Zunahme des Quotienten aus dem cyclischen FFS-Flux und dem FFS-Nettoflux im TG-FFS-Substratcyclus.

XII. LITERATURVERZEICHNIS

1 AAS, M.: Organ and subcellular distribution of fatty acid activating enzymes in the rat. Biochem. Biophys. Acta 231 (1971), 32

2 ARMSTRONG, D.T., R. STEELE, N. ALTSZULER, A. DUNN, J.S. BISHOP and R.C. de BODO: Regulation of plasma free fatty acid turnover. Am. J. Physiol. 201 (1961), 9

3 BALLARD, F.B., W.H. DANFORTH, S NAEGLE, and R.J. BING: Myocardial metabolism of fatty acids. J. Clin. Invest. 39 (1960), 717

4 BASSO, L.V., and R.J. HAVEL: Hepatic metabolism of free fatty acids in normal and diabetic dogs. J. Clin. Invest. 49 (1970), 537

5 BODE, G., and H.U. KLÖR: The effect of fasting on lipoprotein-lipase activity in various tissues of the rat. 19th International Conference on the Biochemistry of Lipids, Paris, 1976

6 BORTZ, W.M., P. PAUL, A.C. HAFF, and W.L. HOLMES: Glycerol turnover and oxidation in man. J. Clin. Invest. 51 (1972), 1537

7 BRAGDON, J.H., and R.S. GORDON: Tissue distribution of C^{14} after the intravenous injection of labeled chylomicrons and unesterified fatty acid in the rat. J. Clin. Invest. 37 (1958), 574

8 CARLSTEN, A. B. HALLGREN, R. JAGENBURG, A. SVANBORG, and L. WERKÖ: Myocardial arteriovenous differences of individual free fatty acids in healthy human individuals. Metabolism 12 (1963), 1063

9 CRASS, M.F., E.S. Mc Caskill, J.C. SHIPP, and V.K. MURTHY: Metabolism of endogenous lipids in cardiac muscle: Effect of pressure development. Amer. J. Physiol. 220 (1971), 428

10 DENTON, R.M., P.J. RANDLE: Concentrations of glycerides and phospholipids in rat heart and gastrocnemius muscles. Effects of alloxan diabetes and perfusion. Biochem. J. 104 (1967), 416

11 DOLE, V. P.: A relation between non-esterified fatty acids in plasma and the metabolism of glucose. J. Clin. Invest. 35 (1956), 150

12 FREDRICKSON, D.S., and R.S GORDON: The metabolism of albuminbound C^{14}-labelled unesterified fatty acide in normal human subjects. J. Clin. Invest. 37 (1958), 1504.

13 FREY, H.M.: Peripheral circulatory and metabolic consequences of thyrotoxicosis. II. Uptake of free fatty acids by the gracilis muscle in normal and thyrotoxic dogs. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 19 (1967), 15

14 FRITZ, J.B., D.G DAVIS, R.H. HOLTROP, and H. DUNDEE: Fatty acid oxidation by skeletal muscle during rest and activity. Amer. J. Physiol. 194 (1958), 379

15 Van GOLDE, L.M.G., J. RABEN, J.J. BATENBURG, B. FLEISCHER, F. ZAMBRANO, S FLEISCHER: Biosynthesis of lipids in golgi complex and other subcellular fractions from rat liver. Biochim. Biophys. Acta 360 (1974a), 179

16 GOLDMAN, R.F., M.F. HAISMAN, G. BYNUM, L.B. SALANS, E. Jr. DANFORTH, E.S. HORTON, and E.A.H. SIMS: Experimental obesity in man. VII. Metabolic rate in relation to dietary intake. In: G.A. Bray, ed. Obesity in perspective. Fogarty International Center Series on Preventive Medicine, U.S Government Printing Office, Washington (1976), 165

17 GOMETZ, F., E. JEQUIER, B. RÜEDI, and J. FELBER: Peripheral action of butylbiguanide in man: Increased glucose uptake und glucose oxidation. Abstract. Diabetologia 6 (1970), 628

18 GOODALF, W.T., R.E. OLSON, and D.B. HACEKL: The effects of fasting and diabetes mellitus on myocardial metabolism in man. Amer. J. Med. 27 (1959), 212

19 GOODMAN, D.S.: The interaction of human serum albumin with longchain fatty acid anions. J. Am. Chem. Soc. 80 (1958), 3892

20 GORDON, R.S. Jr. and A. CHERKES: Unesterified fatty acid in human blood plasma. J. Clin. Invest. 35 (1956), 206

21 HAGENFELDT, L., J. WAHREN: Human forearm muscle metabolism during exercise. II. Uptake, release and oxidation of individual FFA and glycerol. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 21 (1968a), 263

22 HAGENFELDT, L., J. WAHREN, B. PERNOW, R. CRONESTRAND, and S. EKESTROEM: Free fatty acid metabolism of leg muscles during exercise in patients with obliterative iliac and femoral artery disease before and after reconstructive surgery. J. Clin. Invest. 51 (1972), 3061

23 Van HARKEN, D.R., C.W. DIXON, and M. HEIMBERG: Hepatic lipid metabolism in experimental diabetes. J. Biochem. 244 (1969), 2278

24 HAVEL, R.J., A. NAIMARK, and C.F. BORCHGREVINK: Turnover rate and oxidation of free fatty acids of blood plasma in man during exercise: Studies during continuous infusion of palmitate - 1-C^{14}. J. Clin. Invest. 42 (1963), 1054

25 HAVEL, R.J., L.G., EKELUND, and A. HOLMGREEN: Kinetic analysis of the oxidation of palmitate-1-14C in man during prolonged heavy muscular exercise. J. Lipid. Res. 8 (1967), 366

26 HAVEL R.J., B. PERNOW, and N.L. JONES: Uptake and release of free fatty acids and other metabolites in the legs of exercising men. J. Appl. Physiol. 23 (1967), 90

27 HAVEL, R.J., J.P. KANE, E.O. BALASSE, N. SEGEL, and L.V. BASSO: Splanchnic metabolism of free fatty acids and production of triglycerides of very low density lipoproteins in normotriglyceridemic and hypertriglyceridemic humans. J. Clin. Invest. 49 (1970), 2017

28 HOLLENBERG, C H., and A. ANGEL: Relation of fatty acid structure to release and esterification of free fatty acids. Amer. J. Physiol. 205 (1963), 909

29 HUTH, W.: Zur Regulation der Ketogenese in der Leberzelle. Habilitationsschrift, Göttingen (1975)

30 ILLIANO, G. and P. CUATRECASAS: Modulation of adenylate cyclase activity in liver and fat cell membranes by insulin. Science 175 (1972), 906

31 ISSEKUTZ, B. Jr., H.I. MILLER, P. PAUL, and K. RODAHL: Source of fat oxidation in exercising dogs. Am. J. Physiol. 207 (1964), 583

32 ISSEKUTZ, B. Jr., W.M. BORTZ, H.I. MILLER, and P. PAUL: Turnover rate of plasma FFA in humans and in dogs. Metabolism 16 (1967), 1001

33 ISSEKUTZ, B. Jr., P. PAUL, H I. MILLER, and W.M. BORTZ: Oxidation of plasma FFA in lean and obese humans. Metabolism 17 (1968), 62

34 KLEIN, R.F., W.C TROYER, K.W. BACK, T.C. HOOD, and M.D. BOGDONOFF: Experimental stress and fat mobilization in lean and obese subjects Metabolism 14 (1965), 17

35 KREBS, H.A., and R.L. VEECH: Regulation of the redox state of the pyridine nucleotides in rat liver. In: H. Sund, eds. Pyridine nucleotide dependent dehydrogenases. Springer-Verlag, Berlin, Göttingen und Heidelberg (1970), 413

36 LANDS, W.E.M.: Metabolism of glycerolipids. II. The enzymatic of lysolecithin. J. Biol. Chem. 235 (1960), 2233

37 LASSERS, B.W., L. KAIJSER, and L.A. CARLSON: Myocardial lipid and carbohydrate metabolism in healthy fasting man at rest. Studies during infusion of ^{3}H-palmitate Eur. J. Clin. Invest. 2 (1972), 348

38 LAURELL, S.: Plasma free fatty acids in diabetic acidosis and starvation. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 8 (1956), 81

39 LEHNINGER, A.C.: Bioenergetics, the molecular basis of biological energy transformations. W.A. Benjamin, Inc. Menlo Park, California (1971)

40 MALMENDLER, C.L., C. DELCROIX, and M. BERMAN: Interrelations in the oxidative metabolism of free fatty acids, glucose, and glycerol in normal and hyperlipemic patients. A compartmental model. J. Clin. Invest. 54 (1974), 461

41 MAYES, P.A.: Studies on the major pathways of hepatic lipid metabolism using the perfused liver. In: B. Jeanrenaud, and D. Hepp, eds. Addipose tissue. Thieme, Stuttgart (1970), 186

42 McGARRY, D., and D. FOSTER: Progress in endocrinology and metabolism. Regulation of ketogenesis and clinical aspects of the ketotic state. Metabolism 21 (1972), 471

43 MIDDLETON, B.: The oxoaycyl-coenzyme A thiolases of animal tissues. Biochem. J. 132 (1973a), 717

44 MINAIRE, Y., J.C. VINCENT-FALQUET, A. PERNOD, J. CHATONNET: Energy supply in acute cold-exposed dogs. J. Appl. Physiol. 35 (1973), 51

45 MOST, A.S. , N. BRACHFELD, R GORLIN, and J. WAHREN: Free fatty acid metabolism of the human heart at rest. J. Clin. Invest. 48 (1969), 1177

46 NEWSHOLME, E.A., and B. CRABTREE: Substrate cycles in metabolic regulation and in heat generation. Biochem. Soc. Symp. 41 (1976), 61

47 OLSON, R.E. , and D.A. PLATNEK: Conservation of energy in cardiac muscle. Ann. N.Y. Acad. Sci. 72 (1959), 466

48 OPIE, L.H.: Metabolism of the heart in health an disease. Am. Heart. J. 76 (1968), 685

49 OPIE, L.H. P. OWEN, and R.A. RIEMERSMA: Relative rates of oxidation of glucose and free fatty acids by ischaemic and non-ischaemic myocardium after coronary artery ligation in the dog. Europ. J. Clin. Invest. 3 (1973), 419

50 ORAM, J.F. S.I. BENNETCH, and J.R NEELY: Regulation of fatty acid utilization in isolated perfused rat hearts. J. Biol. Chem. 248 (1973), 5299

51 PAUL, P. B. ISSEKUTZ, H. MILLER: Interrelationship of free fatty acids and glucose metabolism in the dog. Am. J. Physiol. 211 (1966), 1313

52 PETER, G., F. SCHRÖPL, H.G. FEISEL, and W. THÜRAUF: Gaschromatographische Untersuchungen von freien und gebundenen Fettsäuren im ekkrinen Schweiß. Arch. Klin. Exp. Derm. 238 (1970), 154

53 SAMUEL, D., S. PARIS, and G. AILHAUD: Uptake and metabolism of fatty acids and analogues by cultured cardiac cells from chick embryo. Eur. J. Biochem. 64 (1976), 583

54 SCHADE, D.S. and R.P. EATON: Glucagon regulation of plasma ketone body concentration in human diabetes. J. Clin. Invest. 56 (1975b), 1340

55 SCHÖNBORN, J., V. EYßELEIN, U. RABAST, und H. KASPER: Vergleichende Untersuchung des Stoffwechsels unter kohlenhydrat- und fettreicher Formuladiät. Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 80 (1974), 1224

56 SCHÖNBORN, J., U. RABAST, und H. KASPER: Energieumsatz unter fett- oder kohlenhydratreichen Reduktionsdiäten. Z. Gastroenterologie 12 (1974), 29

57 SCHÖNFELD, G.: Uptake and esterification of palmitate by rat diaphragm in vitro. J. Lipid Res. 9 (1968), 453

58 SHAFRIR, E., S. GATT, and S. KHASIS: Partition of fatty acids of 20-24 carbon atoms between serum albumin and lipoproteins. Biochem. Biophys. Acta 98 (1965), 365

59 SOLBERG, H.E.: Acyl group specificity of mitochondrial pools of carnitine acyltransferase. Biochem. Biophys. Acta 360 (1974), 101

60 SPECTOR, A.A., and D. STEINBERG: The utilization of unesterified palmitate by ehrlich ascites tumor cells. J. Biol. Chem. 240 (1965), 3747

61 SPECTOR, A.A.: Metabolism of free fatty acids. Progr. Biochem. Pharmacol. 6 (1971), 130

62 SPECTOR, A.A., and J.C. HOAK: Letter: Fatty acids, platelets, and microcirculatory obstruction. Science 190 (1975), 490

63 SPITZER, J.J., and W.T. Jr. McELROY: Some hormonal effects on uptake of free fatty acids by the liver. Amer. J. Physiol. 199 (1960), 876

64 SPITZER, J.J., and M GOLD: Free fatty acid metabolism by skeletal muscle. Amer. J., Physiol. 206 (1964), 159

65 SPITZER, J.J., and S. HORI: Oxidation of free fatty acids by skeletal muscle during rest and electrical stimulation in control and diabetc dogs. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 131 (1969), 555

66 STEINBERG, D.: Fatty acid mobilization - mechanism of regulation and metabolic consequences. Biochem. Soc. Proc. 14 (1963), 111

67 TROUT, D.L., E.H. Jr. ESTES, and S.J. FRIEDBERG: Titration of free fatty acids of plasma: A study of current methods and new modification. J. Lipid. Res. 1 (1960), 199

68 UTTER, M.F., D.B KEECH, and M.C. SCRUTTON: A possible role for acetyl CoA in the control of gluconeogenesis. Adv. Enzyme Regul. 2 (1964), 49

69 WAHREN, J., L. HAGENFELDT, and P. FELIG: Splanchnic and leg exchange of glucose, amino acids, and free fatty . J. Clin. Invest. 55 (1975), 1303

Herrn Prof. Dr. med. H. A. Kühn danke ich für die Arbeitsmöglichkeit am gastroenterologischen Labor der Medizinischen Universitätsklinik.

Für die Betreuung während der gesamten Dauer der Arbeit sowie die Durchsicht der Ergebnisse geht mein Dank an Herrn Professor Dr. med. H. Kasper.

Herrn Priv. Doz. Dr. med. J. Schönborn gilt mein Dank für die gute Zusammenarbeit und die freundschaftliche Hilfe bei der Bearbeitung des Themas und der Versuche.

Nicht zuletzt möchte ich meinen herzlichen Dank an Frl. H. Klein aussprechen, die im Labor wertvolle Hilfe leistete.

LEBENSLAUF

Name:	Ernst Dadrich
Geburtstag:	7. Juli 1950
Geburtsort:	Lipprichhausen, Kreis Uffenheim
Eltern:	Vater: Martin Dadrich, Beruf: Landwirt
	Mutter: Maria Dadrich, geb. Bruder
1956 - 1963	Volksschule
1963 - 1970	Wolfram-von-Eschenbach-Gymnasium in Schwabach
Juni 1970	Reifeprüfung
1970 - 1971	Grundwehrdienst
SS 1971	Studium der Medizin in Würzburg
Dez. 1976	Ärztliche Prüfung in Würzburg
März 1977	Medizinalassistent im Städt. Krankenhaus Weiden/Opf. im Fach Innere Medizin
Okt. 1977	Medizinalassistent im Kreiskrankenhaus Gerolzhofen im Fach Chirurgie
April 1978	Restdienstzeit bei der Bundeswehr als Stabsarzt

Seit dem 1. Oktober 1978 bin ich als Assistenzarzt an der Inneren Abteilung des Caritaskrankenhauses Bad Mergentheim tätig.

E. Dadrich

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80